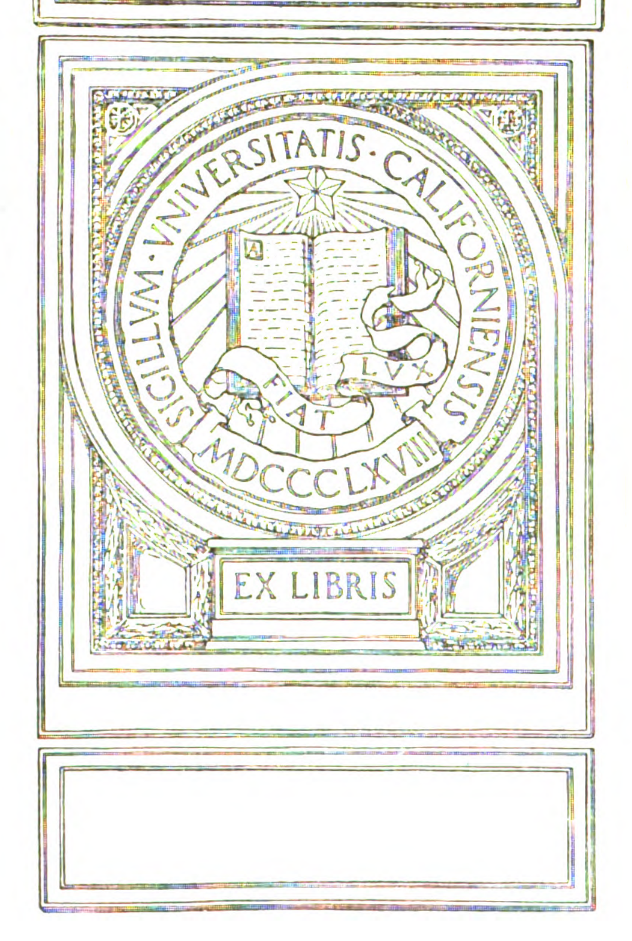



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



ZEITSCHRIFT
FÜR
HYGIENE
UND
INFECTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. ROBERT KOCH,
GEH. MEDICINALRATH,

PROF. DR. C. FLÜGGE
GEH. MEDICINALRATH UND DIRECTOR
DES HYGIENISCHEN INSTITUTS DER
UNIVERSITÄT BRESLAU,

UND

PROF. DR. G. GAFFKY,
GEH. MEDICINALRATH UND DIRECTOR
DES INSTITUTS FÜR INFECTIONSKRANKHEITEN
ZU BERLIN.

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND SIEBEN TAFELN.



LEIPZIG
VERLAG VON VEIT & COMP.
1906

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.





[Aus dem Institut zur Erforschung der Infectionskrankheiten in Bern.]
(Director: Prof. Dr. Tavel.)

Untersuchungen über das nach der Lustig'schen Methode bereitete Choleravaccin.

Von

Karl Schmitz.

Einleitung.

Der erste Forscher, welcher sich mit Immunisirungsversuchen gegen die Cholera beschäftigte, war ein Schüler Pasteur's, der spanische Arzt Ferran. Er behandelte Meerschweinchen mit in Bouillon gezüchteten Culturen und machte dabei die Beobachtung, dass die immunisirten Thiere, wenn sie sich von der Injection erholt hatten, nicht mehr an Dosen zu Grunde gingen, die für normale Thiere tödtlich wirkten. Ohne diese auffällige Erscheinung näher zu studiren und sich Kenntniss zu verschaffen über das Wesen der von ihm zuerst entdeckten Thatsache der Choleraimmunität bei Meerschweinchen, ging Ferran direct zu Versuchen an Menschen über. Zu diesem überraschenden Schritte wurde er um so mehr verleitet, als zur Zeit seiner Versuche im Jahre 1884 in Spanien eine grosse Choleraepidemie herrschte, die unter seinen Landsleuten zahlreiche Opfer forderte und der die Aerzte machtlos gegenüber standen.

Die Impfungen geschahen in der Weise, dass zunächst 8 Tropfen einer Cholerabouilloncultur injicirt wurden; nach 6 bis 8 Tagen folgte die zweite Injection mit einer Dosis von $0 \cdot 5^{\text{ccm}}$ und nach weiteren 6 bis 8 Tagen wurde bei der dritten Inoculation die gleiche Menge Cultur eingeimpft. Diese drei Vaccinationen hielt Ferran für ausreichend, um Menschen auch gegen eine natürliche Infection mit Cholerakeimen zu schützen.



Leider erntete **Ferran** mit seinen Immunisirungsversuchen fast nur Misserfolge, und es blieben daher heftige Angriffe von Seiten seiner Zeitgenossen nicht aus. Nähere Studien über diese Methode durch Tenon da Lara, van Ermengem, Nicati und Rietsch brachten bald Aufschlüsse über den Grund der ungünstigen Ergebnisse. Aus ihnen geht zur Evidenz hervor, dass Ferran die bakteriologische Technik ungenügend beherrschte, da er weder mit Reinculturen arbeitete, noch eine Dosirung bei seinen Impfungen ermöglichen konnte. Zweifellos waren seine Immunisirungsdosen zu gering, da die Bouillonculturen, in offenen Gefässen gezüchtet, wohl zum kleinsten Theil aus Choleravibrionen bestanden, dagegen in grossen Mengen fremde Bakterien beherbergten. Die schlechten Resultate sind daher leicht erklärlich; aber nichtsdestoweniger gebührt Ferran das unbestreitbare Verdienst, als Erster die Immunisirungsmöglichkeit bei Cholera nachgewiesen zu haben.

Trotz der grossen Misserfolge Ferran's liess Haffkine sich nicht abhalten, das Ferran'sche Immunisirungsprincip weiter zu erforschen. Einige Jahre später kam er bei seinen Thierversuchen im Institut Pasteur zur Ueberzeugung, dass das Verfahren verwendbar und eine erfolgreiche Bekämpfung der Cholera durch Verleihung einer activen Immunität möglich sein müsste.

Diese seine Ueberzeugung konnte Haffkine in grossem Maassstabe in Indien, wo die Cholera endemisch ist, an 40000 Menschen erproben. Zwei Impfungen genügen nach seiner Ansicht, um einen hinreichenden Impfschutz zu erzielen.

Das erste subcutan injicirte Vaccin I besteht aus $^1/_{12}$ einer abgetödteten Agarcultur, 5 Tage später wird Vaccin II, bestehend aus $^1/_8$ lebender Agarcultur, injicirt. Haffkine betrachtet die Benutzung dieses sogen. „Virus fixe", d. h. einer Choleracultur, die durch eine Anzahl von Meerschweinchenpassagen eine hohe Virulenz erhalten hat, als eine Vorbedingung für das Zustandekommen der Immunität. Seine Ansicht hat jedoch wenig Wahrscheinlichkeit, da die Vibrionen sehr bald nach der Injection nach Haffkine's eigenen Angaben zu Grunde gehen und in Folge dessen ihre Virulenz nicht entfalten können. Ausserdem ist auch die in den letzten Jahren erwiesene Thatsache nicht zu vergessen, dass eine für eine Thiergattung, z. B. Meerschweinchen, gesteigerte Virulenz keineswegs gleichzeitig proportional vermehrt ist für eine andere, z. B. Menschen. Fernerhin haben Untersuchungen von Pfeiffer, Kolle und v. Dungern ergeben, dass zur Verleihung eines genügenden Impfschutzes die Verwendung einer virulenten Cultur nicht erforderlich ist, da die in den Vibrionenleibern enthaltenen Giftstoffe selbst zur Resorption gelangen und dadurch Schutzkraft entfalten.



Die Reactionserscheinungen sind im Allgemeinen sehr erheblich; die Körpertemperatur steigt um 1 bis 2 Grad, kehrt aber gewöhnlich nach 24 Stunden zur Norm zurück. Eine dauernde Schädigung der Inoculirten konnte aber niemals nachgewiesen werden. Die Immunität tritt nach 5 Tagen ein und dauert ca. 1 Jahr.

Das ganze statistische Material aller Geimpften konnte zur Beurtheilung des Präventivverfahrens nicht herangezogen werden, da einerseits ganze Landestheile, wo Inoculirte wohnten, von der Invasion der Cholera verschont blieben, andererseits Inoculirte nicht immer in gleicher Weise der Cholerainfection ausgesetzt waren wie Nichtvaccinirte. Um ein möglichst einwandfreies Resultat der Wirksamkeit der Impfungen zu gewinnen, wurden daher die Ergebnisse der Bewohner von grossen Häusern, Kasernen und Gefängnissen, die gleichmässigeren Infectionsbedingungen ausgesetzt waren, zu Zahlenvergleichen herangezogen. Eine ganze Reihe von veröffentlichten Beobachtungen, die zum Theil officiell beglaubigt sind, sprechen entschieden dafür, dass durch die Inoculation die Menschen gegen die natürliche Cholerainfection geschützt waren. So starben z. B. während der Choleraepidemie in Kalkutta im Jahre 1894 von 340 Nichtgeimpften ungefähr 12 Procent, während von 181 Geimpften nur 2 Procent zu Grunde gingen. Von anderen Orten berichtet Haffkine ähnlich günstige Resultate.

Genügen nun derartig geringe Bakterienmengen, wie sie von Ferran und Haffkine verwandt wurden, um im menschlichen Organismus eine hinreichende Schutzkraft gegen eine natürliche Cholerainfection zu erzeugen? Eine absolut sichere Antwort geben die Resultate Haffkine's nicht, jedoch hat Kolle bei Nachprüfungen in der That dieselbe erbracht.

Das Blut der Impflinge wurde kurz vor und 10 Tage nach der Injection auf seine baktericiden Eigenschaften am Meerschweinchen in der von Pfeiffer angegebenen Weise titrirt. Während der Grenzschutzwerth des Serums, der baktericide Titer gegen eine Oese lebender Vibrionen vor der Inoculation 0.75 ccm Serum betrug, schützten von den nach 10 Tagen entnommenen Serumproben noch 0·003 ccm die Meerschweinchen gegen die gleiche Dosis der Vibrionen unter sonst völlig gleichen Versuchsbedingungen.

Kolle suchte weiterhin durch eine einzige, etwas höhere Immunisirungsdosis mit abgetödteten Vibrionen den gleichen Effect zu erzielen, und in der That gelang es ihm, die specifischen Antikörper in höheren Concentrationen nachzuweisen als bei Cholerareconvalescenten.

Somit ist also mit voller Sicherheit nachgewiesen, dass in dem Serum des mit Choleravibrionen inoculirten Menschen hinreichend specifische,



baktericide Cholera-Antikörper entstehen, um einer natürlichen Infection Widerstand leisten zu können.

Neuerdings wird auch die von Neisser und Shiga zuerst angegebene active Immunisirungsmöglichkeit mit Autolysaten der Bakterien bei der Schutzimpfung gegen Cholera angewandt. So ist durch die Arbeiten von Brieger und M. Mayer bewiesen, dass die autolytischen Producte des Typhus und der Cholera im destillirten Wasser eine starke Bildung von Agglutininen und baktericiden Substanzen hervorrufen können. Auch Bertarelli hat an sich selbst, sowie an Kaninchen die Production specifischer Antikörper nach Injection von Choleraautolysat beobachtet; jedoch vermag er der Shiga'schen Methode nicht das Wort zu reden, da ausser der Umständlichkeit des Verfahrens die Steigerung der Immunität eine bedeutende Quantität des Inoculationsmateriales erfordert, wenn auch andererseits gewisse Vorzüge, wie Immunisationsdauer und die Verwendung eines garantirt sterilen Materiales nicht zu unterschätzen sind. Schliesslich sei auch noch der ausführlichen Arbeit von Strong Erwähnung gethan, der während einer Choleraepidemie bei Versuchen an Menschen und Thieren mit einem durch Autolyse gewonnenen Impfschutzmittel ebenfalls ein baktericides Serum erhielt, das ausserdem noch agglutinirende Wirkung hatte, dessen antitoxische Wirkung aber gering war. Wegen Erlöschens der Epidemie war es nicht möglich, nach dieser Methode weitere Untersuchungen anzustellen, jedoch hat er festgestellt, dass die Injection des Autolysats beim Menschen vollkommen gefahrlos ist, Localreactionen kaum auftreten und die Allgemeinreaction sehr leicht ist.

Immunisirungsmethode nach Lustig.

Zur Beseitigung der Schwierigkeiten, welche die Verwendung von flüssigen Schutzimpfstoffen, besonders in Ländern, wo Infectionskrankheiten endemisch sind und schlechte Verkehrsverhältnisse herrschen, mit sich bringt, suchte Lustig in Verbindung mit Galeotti ein Vaccin darzustellen, das ausser einer vorzüglichen Wirkung eine leichte Dosirung und eine lange dauernde Haltbarkeit in sich vereinigt.

Um dieses Ziel zu erreichen, extrahirten sie aus den Bakterienleibern die wirksamen Stoffe vermittelst chemischer Reagentien und erhielten auf diese Weise einen Körper, den sie in Folge seiner specifischen Eiweissreactionen in die Gruppe der Nucleoproteïde einreihten.

Mit dem nach diesen Verfahren aus Pestbacillen bereiteten Vaccin machten obige Forscher die ersten Versuche an Ratten, Kaninchen und Affen und erzielten dabei gute Resultate. Durch diese Erfolge angeregt, dehnten sie ihre Untersuchungen auch auf Menschen aus, wobei ähnliche

Ergebnisse resultirten und unangenehme Nebenerscheinungen von Bedeutung nicht auftraten.

In dem Berner Institut zur Erforschung der Infectionskrankheiten wurden die Lustig'schen Experimente einer eingehenden Controle unterzogen; die erhaltenen Resultate bestätigen Lustig's Angaben vollständig.

Im vergangenen Jahre veröffentlichte Tiberti eine Arbeit über die immunisirende Wirkung des nach dem Lustig'schen Verfahren aus Milzbrandbacillen extrahirten Nucleoproteïds. Auch diesem Autor ist es gelungen, mit dem Impfstoff eine active Immunität gegen Milzbrand zu erzeugen.

Eigene Untersuchungen.

Virulenz und Alter der verwendeten Choleraculturen.

Die günstigen Ergebnisse, welche Lustig, Galeotti und Tavel mit dem Nucleoproteïd des Pestbacillus, und kürzlich auch Tiberti mit dem aus Milzbrand extrahirten Nucleoproteïd erzielt haben, liessen die Frage berechtigt erscheinen, ob sich auch mit dem Nucleoproteïd anderer pathogenen Mikroorganismen entsprechende Resultate ergeben würden. Zur Lösung dieser Frage, die sowohl vom praktischen als auch vom theoretischen Standpunkte aus viel Interessantes bietet, stellte ich auf Anrathen des Hrn. Prof. Dr. Tavel eingehende Immunisirungsversuche mit dem aus Choleravibrionen nach der Lustig'schen Methode gewonnenen Nucleoproteïd an.

Zur Bereitung des Vaccins bediente ich mich aus unten noch näher zu besprechendem Grunde zweier Culturen von verschiedenem Alter und Virulenz. Die eine entstammte dem hiesigen Institut zur Erforschung der Infectionskrankheiten und wurde seit mehreren Jahren in den praktischen Cursen zu Demonstrationszwecken verwandt. Ihre Virulenz war sehr gering; die einfach tödtliche Dosis für Meerschweinchen betrug 1·2 Oesen (Normalöse von 1·5 mm Durchmesser) pro 100 grm Thiergewicht. Durch das freundliche Entgegenkommen des Königl. Instituts für Infectionskrankheiten in Berlin kam ich in den Besitz einer jungen und virulenten Cultur. Nach Angabe sollte $^1/_6$ Oese genügen, um ein Meerschweinchen von 200 grm Gewicht innerhalb 24 Stunden zu tödten. Bei der Festlegung der tödtlichen Minimaldosis stellte sich jedoch heraus, dass die Virulenz etwas geringer geworden war; sie betrug nämlich $^1/_4$ Oese pro 100 grm Thiergewicht. Aus diesen beiden Culturen bereitete ich mir das Vaccin in folgender Weise.



Darstellung des Choleravaccins.

Mittels einer sterilisirten Pipette werden 24 Stunden alte Cholerabouillonculturen auf breite, in grosse Flaschen ausgegossene Agarflächen geimpft. Bei Bruttemperatur lässt man 3 bis 4 Tage wachsen und schwemmt dann die üppigen Beläge mit 1 procentiger sterilisirter Kalilauge ab. Durch diese Behandlung mit Aetzkali quellen die Bakterienleiber auf und gehen allmählich in Lösung. Nach 2- bis 3 stündiger Einwirkung der Kalilauge entsteht eine fadenziehende, gelblichweisse, opalescirende Masse, aus der unter allmählicher Ansäuerung mit 1 procent. Essigsäure und ständigem Umrühren das Nucleoproteïd in dicken Flocken ausfällt. Wenn der Niederschlag sich vollständig zu Boden gesetzt hat, pipettirt man die überstehende Flüssigkeit sorgfältig ab und versetzt wieder mit sterilem Wasser. Dies Verfahren wiederholt man mehrere Male, bis die Flüssigkeit nur noch schwach sauer reagirt. Erst dann bringt man das gelblich-weisse Vaccin auf ein steriles Filter und wäscht so lange aus, bis das abfliessende Wasser neutrale Reaction zeigt. Der Rückstand wird nun in sterilen Schalen gesammelt, im Vacuum getrocknet und in pulverisirtem Zustande in dunklen Gefässen aufbewahrt. Für Injectionszwecke löst man das hellbraune Pulver in 1 procentiger Sodalösung kurz vor dem Gebrauche auf.

Art der Immunisirung und Concentration des Vaccins.

Bei meinen Immunisirungsversuchen bediente ich mich absichtlich nicht der intraperitonealen, sondern der subcutanen Vaccination. Von dem Gedanken ausgehend, dass nach eventuellen günstigen Ergebnissen bei den Thierversuchen die Wirkungen des Nucleoproteïds auch auf den Menschen übertragen werden könnten, glaubte ich, mich des subcutanen Inoculationsmodus um so mehr bedienen zu sollen, als die intraperitoneale Behandlung bei der Empfindlichkeit des menschlichen Peritoneums leicht lebensbedrohende Folgeerscheinungen haben kann.

Die Infection sowohl beim immunisirten als auch beim Controlthier geschah dagegen stets intraperitoneal, einerseits um die Thiere einer schnellen und sicheren Wirkung des Infectionsstoffes auszusetzen, andererseits kann man bei einer Verzögerung des tödtlichen Ausganges des vaccinirten Thieres auf einen baktericiden Vorgang im Organismus schliessen, was bei einer subcutanen Infection in Folge des langsamer eintretenden Effectes weniger möglich ist.

Als Versuchsthiere kamen zunächst nur Meerschweinchen in Betracht; späterhin auch Kaninchen mit Rücksicht auf die bequemere und reichlichere Gewinnung von Serum.



Zu den Immunisirungen benutzte ich eine 1 procentige Vaccinsolution in ganz verdünnter Sodalösung. Wie sich bei den Kaninchenversuchen späterhin zeigte, ist eine höhere Concentration des Impfstoffes als 2 Procent wenig empfehlenswerth; es geht nämlich bei 3- bis 4 procentigen Lösungen die Resorption der inoculirten Masse vom Unterhautzellgewebe aus sehr langsam von Statten und es kommt in Folge dessen leicht zu subcutanen Verhärtungen.

Toxicität des Cholera-Nucleoproteïds und Reactionserscheinungen desselben.

Das Vaccin vermag in grösserer Menge eingespritzt auf den thierischen Organismus starke toxische Wirkungen zu entfalten. Je nach der Quantität des injicirten Materiales sind die Erscheinungen mehr oder weniger charakteristisch.

Bei einzelnen Thieren treten kurz nach der Injection schwache Krämpfe auf, die aber höchstens 2 bis 3 Minuten dauern. Ist die tödtliche Dosis ungefähr erreicht oder sogar überschritten, so macht sich nach wenigen Stunden eine starke Reaction bemerkbar. Die sonst lebhaften Thiere sitzen still zusammengekauert mit gesträubten Haaren in einer Ecke des Käfigs, reagiren nicht auf äussere Einflüsse wie Schlag oder Stoss, fressen nicht, kurz sie zeigen alle Symptome einer acuten Vergiftung. Die Temperatur sinkt rapide, in einem Falle (Nr. 22) sogar bis auf 34·6°, um dann bei Thieren, welche die Vaccination überleben, nach ca. 48 Stunden zur Norm zurückzukehren. Bei einigen Meerschweinchen kam es in Folge Injection grösserer Dosen activer Substanz zur Bildung von Abscessen (Nr. 9, 10, 11, 15, 16), die theils auf die Injectionsstelle beschränkt blieben, theils eine geringe Infiltration in der benachbarten Musculatur veranlassten. Sie öffneten sich gewöhnlich nach einigen Tagen; die Heilung bezw. Vernarbung der Wunde nahm ca. 2 bis 3 Wochen in Anspruch.

Wegen der vielen verschiedenartigen Manipulationen bei der Bereitung des Nucleoproteïds ist es sehr schwierig, ein vollständig keimfreies Präparat herzustellen. Es müsste zu diesem Zwecke ein besonderer Raum, der nur von wenigen Personen frequentirt wird, zur Verfügung stehen, wie dies bei der Pestvaccinbereitung im hiesigen Institut schon der Vorsicht halber der Fall ist. Ausserdem wäre, da die unangenehmen Abscessbildungen wahrscheinlich auf die Anwesenheit von Luftbakterien im Impfmaterial zurückzuführen sind, ein geringer Phenolzusatz zur Immunisirungsflüssigkeit empfehlenswerth, wie dies ja von anderen Instituten bei der Conservirung der einzelnen Sera eingeführt ist. Besondere Untersuchungen sind hierüber noch im Gange.



Wie aus der Reihe der Untersuchungen hervorgeht, empfiehlt es sich daher, nur kleine Immunisirungsdosen zu verwenden, die in kurzer Zeit vollkommen resorbirt werden. Dieses Verfahren ist auch um so mehr zu empfehlen, als durch die Vaccination selbst sehr kleiner Mengen Nucleoproteïd eine starke Immunität erzielt werden kann, wie es sich aus meinen späteren Versuchen ergiebt.

Bei der Application geringer Quantitäten Vaccin, z. B. 1 bis 5 ^{mg} pro 100 ^{grm} Thiergewicht, treten fast gar keine heftigen, unangenehmen Nebenerscheinungen auf; die Normaltemperatur wird höchstens um 1 bis 1·2° überstiegen; die Fresslust ist nur wenig vermindert, auch ist nur eine geringfügige Gewichtsabnahme zu bemerken. Die Thiere sind meist vollkommen munter. Die Resorption des Vaccin geht schnell von Statten.

Bestimmung der einfach tödtlichen Vaccindosis.

Die Wirkung der einzelnen Inoculationsmengen des Choleravaccins bei Meerschweinchen ist vielfach verschieden. Man kann daher die minimale tödtliche Dosis nur sehr schwierig in genauer Weise angeben. Bei der Feststellung derselben gingen die meisten Thiere an Dosen von 10 bis 15 ^{mg} pro 100 ^{grm} Thiergewicht zu Grunde, oberhalb dieser Grenze kam keines mehr mit dem Leben davon. Auffallender Weise gingen auch einzelne Thiere an geringeren Dosen ein, z. B. Nr. 17 (vgl. Protokolle der Experimente) sogar an einem Milligramm (Gesammtmenge Vaccin 0·0032), ohne dass sich eine andere Todesursache eruiren liess.

Lustig scheint bei seinen Untersuchungen mit Pestvaccin ähnliche Beobachtungen gemacht zu haben, da er sagt: „Nicht immer haben wir die Substanz bei den verschiedenen Bereitungen mit der gleichen Toxicität angetroffen. Wir können daher die tödtlichen Dosen nicht in entscheidender Weise angeben. Wir haben Grund anzunehmen, dass die Variabilität des toxischen Vermögens im Verhältniss steht mit der Virulenz und dem Alter der angewandten Cultur und mit der Concentration der Kalilösung, in welcher die Bakterien aufgelöst sind.“

Bezüglich der Auflösung in verschieden starker Kalilösung habe ich keine Untersuchungen ausgeführt, jedoch habe ich die Ansicht von Lustig bezüglich des Alters und der Virulenz bei meinen Experimenten im Auge behalten. Ich stellte nämlich Parallelversuche an mit einem aus einer schon lange künstlich fortgezüchteten und avirulenten Cultur hergestellten Vaccin I und einem Vaccin II, das einer jungen und virulenten Cultur entstammte.

Auf Grund meiner Beobachtungen glaube ich behaupten zu können, dass sich die Lustig'sche Annahme nicht auf das Choleravaccin über-



tragen lässt. In der ganzen Reihe meiner Untersuchungen konnte ich kein einziges Mal eine Verschiedenheit in der Toxicität der beiden verwendeten Vaccins constatiren, von denen das eine einer ca. 5 Mal höher virulenten Cultur entstammte als das andere. Es dürfte vielmehr die Variabilität in der Wirkung des Choleranucleoproteïds in einer jeweilig verschiedenen Disposition des einzelnen Thieres zu suchen sein. Ich möchte hier besonders auf Thier Nr. 33 verweisen, das mit einer Gesammtmenge von 0·0036 Vaccin I behandelt war. Es zeigte einige Stunden nach der Injection alle Symptome einer schweren Intoxication, obschon es trotz der kleinen Dosis von 0·001 ^{grm} pro 100 ^{grm} Thiergewicht mit dem Nucleoproteïd der nichtvirulenten Cultur geimpft war. Im Gegensatz dazu vertrug z. B. Nr. 28 eine 5 Mal grössere Vaccindosis pro 100 ^{grm} Thiergewicht von Vaccin II fast ohne merkliche Reaction.

Als Stütze meiner Ansicht möchte ich noch die bereits Eingangs erwähnte Arbeit von Dungerns citiren, der bei seinen Immunisirungsversuchen mit abgetödteten Choleravibrionen zu dem Schlusse kommt, dass vollvirulente Culturen nicht giftiger wirken als vollkommen avirulente.

Dauer und Eintritt der Immunität.

Bei den ersten Immunisirungsversuchen verwandte ich mit Absicht ziemlich hohe Dosen Vaccin, einerseits um die einfach tödtliche Dosis festzustellen, andererseits um durch eine einmalige Inoculation eine möglichst hohe, lange dauernde Immunität zu erzielen. Ich musste mich jedoch bald überzeugen, dass es in Folge der Reactionen, welche der Impfstoff im thierischen Organismus auszulösen vermag, nicht rathsam ist, grössere Quantitäten activer Substanz zu injiciren.

Ich suchte deshalb durch Wiederholung kleiner Injectionsdosen bezw. eine geringe Erhöhung derselben das gleiche Ziel zu erreichen. Bei der Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegen Choleranucleoproteïd muss man jedoch mit der Vergrösserung der Vaccinationsmenge langsam vorgehen, da sonst die Thiere leicht zu Grunde gehen. Wiederholte Injectionen von 1 bis 5 ^{mg} Vaccin pro 100 ^{grm} Thiergewicht wurden ganz gut vertragen; einige Thiere (Nr. 18 u. 19) erhielten diese Dosis 2 Mal, andere (Nr. 13 u. 15) sogar 3 Mal.

Wie sich aber bei meinen vergleichenden Versuchen von Vaccin I und Vaccin II herausstellte, ist eine Erneuerung der Vaccination überhaupt nicht erforderlich, da man schon mit oben angegebener Injectionsdosis einen genügenden Schutzwerth erzielen kann.

Ungefähr 7 Monate nach der letzten Schutzimpfung mit Choleranucleoproteïd injicirte ich zwei Meerschweinchen (Nr. 13 u. 15) mit der einfach tödtlichen Dosis virulenter Cultur.



24 Stunden nach der Infection und desgleichen an den folgenden Tagen zeigten die Thiere Krankheitssymptome; sie sassen ruhig nebeneinander mit gesträubtem Haare in ihrem Käfig und frassen nur sehr wenig. Nach Verlauf von 5 bezw. 6 Tagen gingen beide Immunthiere zu Grunde.

Drei andere Meerschweinchen (Nr. 1, 4 und 5) wurden 2 bezw. $1^1/_2$ Monate nach der Vaccination inficirt. Sämmtliche immunisirten Thiere waren am folgenden Tage munter, frassen gut und zeigten keine Spur einer Erkrankung, während das Controlthier in der Nacht eingegangen war. Der Sectionsbefund des letzteren ergab eine Ueberschwemmung des Körpers mit Choleravibrionen.

Das nach dem Lustig'schen Verfahren bereitete Choleravaccin erzeugt also im thierischen Körper einen Immunitätsgrad, der nach $^1/_2$ Jahre noch deutlich in die Erscheinung tritt und, wenn auch keinen letalen Ausgang des inficirten Thieres verhindert, doch eine Verzögerung desselben hervorruft. Ausser dieser Verzögerung ist von Wichtigkeit, dass bei der Section im Gegensatz zu den Sectionsbefunden der inficirten Controlthiere weder im Blut noch im Peritonealexsudat Choleravibrionen nachweisbar waren, ein Umstand, der die Deutung wahrscheinlich macht, dass die betreffenden Immunthiere noch ein genügend starkes bakterieides Vermögen besassen, dagegen nicht im Stande waren, die aufgelösten giftigen Bakterienproteïne zu neutralisiren. Nach 2 Monaten ist jedoch die Schutzkraft noch so stark, dass das immunisirte Thier gegen eine Infection mit einer tödtlichen Dosis vollkommen geschützt ist.

In welcher Zeit kommt nun die mit dem Lustig'schen Impfstoff im Körper hervorgerufene Immunität zu Stande?

Wie aus Tabelle V ersichtlich, widerstanden Nr. 18 und 19 nach zweimaliger Vaccination mit einer kleinen Dosis schon nach 8 Tagen der zweifach tödtlichen Infectionsmenge.

Durch allmähliche Verkürzung der Zeitdauer zwischen Immunisirung und Infection konnte ich beobachten, dass die mit der kleinsten angewandten Vaccinationsdosis von 1 ^{mg} pro 100 ^{grm} Thiergewicht, d. h. einer Gesammtmenge von 3·4 bis 3·8 ^{mg} Vaccin behandelten Meerschweinchen (Nr. 31 bis 34) einen so hohen Immunitätsgrad erreichten, dass sie nach 24 Stunden der einfachen, nach 48 Stunden bereits der zweifach tödtlichen Dosis virulenter Cultur widerstanden.

Nr. 31 u. 32, welche mit der einfach letalen Dosis inficirt waren, waren am folgenden Tage vollkommen normal; dagegen zeigten die mit der doppelten Menge virulenter Cultur behandelten Thiere Nr. 33 u. 34 die specifischen Krankheitssymptome. Die Fresslust war gering, die Temperatur subnormal; am 3. Tage waren sie jedoch vollständig wieder



hergestellt. Man darf wohl hieraus den Schluss ziehen, dass für die kurze Zeitdauer von 48 Stunden zur Immunitätserwerbung die Grenze der Infectionsdosis sehr nahe erreicht war.

Es schien mir weiterhin interessant, zu constatiren, wie sich die Thiere während der Immunitätserwerbung, d. h. innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Vaccination, gegenüber der für normale Meerschweinchen einfach letalen Dosis verhalten würden.

Wie nämlich Calmette und Salimbeni bei Immunisirungsversuchen mit Pest nach der Haffkine'schen Methode nachgewiesen haben, zeigen Ratten während der Erwerbung der Immunität eine Ueberempfindlichkeit gegenüber dem betreffenden Krankheitserreger, da sie an Pestdosen zu Grunde gehen, die für normale, nicht vaccinirte Thiere nicht tödtlich wirken.

Dieselbe Erscheinung hat auch Besredka bei dem nach seinem Verfahren gewonnenen Pestvaccin beobachtet.

Um nun das Verhalten der Meerschweinchen während der Reactionsperiode nach Application von Lustig'schem Choleravaccin zu studiren, impfte ich drei Thiere (Nr. 35, 36 und 37) von ungefähr dem gleichen Gewicht mit je einem Milligramm Vaccin pro 100 ^{grm} Thiergewicht. Diese Vaccination wurde von sämmtlichen Thieren gut überstanden und machten sich ausser einer geringen Temperaturveränderung keine bedeutenderen Nebenerscheinungen bemerkbar. 3, 6 und 9 Stunden später inficirte ich die Thiere mit einer tödtlichen Choleradosis.

Wenige Stunden nach der Infection zeigte Nr. 35 alle Symptome einer schweren Erkrankung; mit halbgeschlossenen Augen lag es auf der Seite und reagirte auf keine äusseren Einflüsse, ein nahes Ende schien bevorzustehen. Nr. 36 zeigte ca. 3 Stunden nach der Infection ähnliche Erscheinungen, jedoch in geringerem Grade; Nr. 37 konnte in der Nacht nicht genau beobachtet werden.

Trotz der schweren, bei Nr. 35 und 36 eingetretenen Vergiftungserscheinungen lebten alle drei Thiere noch am folgenden Morgen, während das Controlthier in der Nacht eingegangen war. Die Spuren der heftigen Reaction waren kaum noch bemerkbar. Die Thiere erholten sich im Laufe des Tages vollkommen.

Diese Versuche dürften beweiskräftig dafür sein, dass die durch Behandlung mit Choleravaccin bei Meerschweinchen erzeugte Immunität schon in den ersten Stunden nach der Vaccination eine deutliche ist, dann allmählich steigt und sich lange auf gleicher Höhe wirksam erhält. Bei dem unerwartet schnellen Eintritt der Immunität ist es jedoch unmöglich zu entscheiden, ob die Erhöhung der Widerstandsfähigkeit in



einer specifischen Immunität besteht oder ob eine vermehrte „Resistenz“ des Organismus vorliegt, die allmählich in die specifische Immunität übergeht.

Die Mehrzahl der vaccinirten Meerschweinchen wurde 14 Tage nach der ersten Infection nochmals mit einem Multiplum der für normale Thiere einfach tödtlichen Choleradosis inficirt. Keines der zum zweiten Male inficirten Thiere ging dabei zu Grunde, selbst nicht an Dosen, welche die gewöhnlich letale Dosis um das Achtfache überstiegen. Dieser hohe Immunitätseffect dürfte wohl in der Hauptsache der Wirkung des Choleranucleoproteïds zuzuschreiben sein, wenn auch dabei zu erwägen bleibt, inwieweit die der Vaccination folgende erste Infection den Immunitätsgrad steigern kann.

Sectionsbefunde der in Folge der Vaccination und Infection eingegangenen Thiere.

Die an den Folgen der Immunisirung zu Grunde gegangenen Meerschweinchen zeigen meist eine leichte Anschwellung der Lymphorgane in der Leistengegend, an der Injectionsstelle hier und da eine schmutzige Verfärbung der Musculatur und ein geringes Oedem. In der Bauch- und zuweilen auch in der Brusthöhle bemerkt man ein mehr oder weniger trübes, seröses Exsudat; das Peritoneum ist mit einem trüben, fadenziehenden Belag überzogen; desgleichen ist bei schweren Intoxicationen die Leber mit einem starken, eitrig-fibrinösen Häutchen bedeckt, das sich leicht abziehen lässt. Mitunter kommt eine leichte Injection von Magen und Dünndarm vor. Herz und Lunge sind dagegen vorzugsweise normal; nur einmal (bei Nr. 9) konnte ich eine blaurothe Verfärbung der Lunge mit ungleichmässiger Ausdehnung pneumonischer Herde beobachten.

Die vom Herzblute und peritonealen Exsudate angefertigten Präparate und Culturen ergaben meist ein negatives Resultat, ausgenommen Nr. 15, wo sich Staphylokokken in geringer Anzahl im Peritoneum vorfanden.

Die bei meinen Untersuchungen benutzten Controlthiere wurden gleichfalls einer sorgfältigen Section unterzogen. Makroskopisch zeigte der Befund grosse Aehnlichkeit mit dem derjenigen Meerschweinchen, welche an den Folgen der Vaccination verendet waren. Jedoch waren in dem vom Peritonealexsudate angefertigten mikroskopischen Präparate stets zahlreiche, kommaförmige Vibrionen in Reincultur bemerkbar. Im Herzblute fand ich selten charakteristische Bakterien, jedoch stets Involutionsformen. Der culturelle Nachweis war in solchen Fällen immer positiv. Die Einzelheiten von den verschiedenen Beobachtungen ergeben die



Protokolle der Thierexperimente.

1. Experiment.

Immunisirung am 1.III. 04. Drei Meerschweinchen (Nr. 1 Gew. 490^{grm}, Nr. 2 Gew. 400^{grm}, Nr. 3 Gew. 420^{grm}) werden subcutan mit Vaccin Lustig geimpft; Nr. 1 mit 0·01, Nr. 2 mit 0·015 und Nr. 3 mit 0·018 pro 100^{grm} Thiergewicht. Gesammtmenge Vaccin beträgt für Nr. 1: 0·049, für Nr. 2: 0·06 und für Nr. 3: 0·075. Kurz nach der Injection treten schwache Krämpfe auf ca. 2 bis 3 Minuten lang. Nach 6 Stunden sitzen die Thiere mit gesträubtem Haar zusammengedrängt in ihrem Käfig, fressen nicht, reagiren nicht auf Schlag oder Stoss. Am anderen Morgen sind Nr. 2 u. 3 todt, Nr. 1 lebt noch, zeigt aber wenig Lust zum Fressen.

Sectionsbefund von Nr. 2 u. 3. Schwellung der Lymphorgane in der Leistengegend auf beiden Seiten; Magen und Dünndarm injicirt, Dickdarm weniger; trübes, seröses Exsudat; Peritoneum trübe, mit fadenziehendem, Leber mit starkem eitrig-fibrinösen Belag; Herz und Lunge normal. Im Präparat viele Leukocyten, vereinzelte, rothe Blutkörperchen. Cultur des Peritonealexsudates und des Herzblutes negativ.

2. Experiment.

Immunisirung am 17. III. 04. Impfung von 3 Meerschweinchen (Nr. 4 Gew. 370^{grm}, Nr. 5 Gew. 440^{grm}, Nr. 6 Gew. 500^{grm}) Nr. 4 mit 0·005, Nr. 5 mit 0·01 und Nr. 6 mit 0·015 pro 100^{grm} Thiergewicht. Gesammtmenge Vaccin beträgt für Nr. 4: 0·018, für Nr. 5: 0·044 und für Nr. 6: 0·075. Am folgenden Tage ist Nr. 6 krank, Nr. 4 u. 5 dagegen ziemlich munter; am 19. III. 04 Morgens ist Nr. 6 todt.

Sectionsbefund: Wie bei Nr. 2 u. 3.

Erste Infection von Nr. 1, 4 und 5 nach ca. 8 bezw. 6 Wochen am 27. IV. 04 mit einer tödtlichen Dose Choleravibrionen. Controlthier nach 24 Stunden todt, die immunisirten Thiere sind munter.

Zweite Infection von Nr. 1, 4 und 5 am 13. V. 04 mit zwei tödtlichen Dosen Choleravibrionen.

Am 14. V. 04 sind sämmtliche Thiere munter.

3. Experiment.

Immunisirung am 19. IV. 04. Es werden 6 Meerschweinchen mit verschiedenen Mengen Vaccin I immunisirt. Nr. 7 u. 8 (Gew. 250^{grm}) mit je 0·005, Nr. 9 u. 10 (Gew. 270^{grm}) mit je 0·01 und Nr. 11 u. 12 (Gew. 280^{grm}) mit je 0·015^{grm} pro 100^{grm} Thiergewicht. Die Gesammtmenge des injicirten Nucleoproteïds beträgt für die beiden ersten 0·0125, für Nr. 9 u. 10: 0·027 und für die beiden letzteren 0·042.

Nach 2 Tagen haben Nr. 9, 10, 11 an der Inoculationsstelle einen Abscess, der nach mehreren Tagen aufbricht und nach 2 bis 3 Wochen wieder vollständig vernarbt ist. Nr. 9 geht am 25. IV. 04 ein und Nr. 12 am 21. IV. 04.

Sectionsbefund von Nr. 9. An der Injectionsstelle zwischen der Musculatur Abscess. Im Peritoneum etwas trübes Exsudat; Cultur negativ,



Lunge links blauroth, ungleichmässige Ausdehnung pneumonischer Herde; desgleichen rechts in geringerem Grade.

Herzblutpräparat negativ.

Sectionsbefund von Nr. 12. An der Inoculationsstelle schmutzige Verfärbung der Musculatur und etwas ödematöse Durchtränkung derselben; Organe der Brust- und Bauchhöhle im Ganzen normal; etwas Injection der Därme. Peritoneales und Herzblutpräparat und Cultur negativ.

Erste Infection am 5. V. 04. Nr. 7 u. 8 werden nach 14 Tagen mit einer tödtlichen Choleradosis intraperitoneal inficirt. Beide Thiere überstehen die Infection, während das Controlthier am anderen Morgen todt ist. Nach der Section im mikroskopischen Präparat zahlreiche Vibrionen nachweisbar.

Zweite Infection am 19. V. 04 mit drei tödtlichen Choleradosen: am 20. V. 04 krank, erholen sich nach einigen Tagen vollständig. Nr. 10 u. 11 werden behufs Erlangung eines hohen Immunitätsgrades noch weiterhin mit den gleichen Mengen Vaccin geimpft. Nr. 11 stirbt 24 Stunden nach der zweiten Immunisirung. Nach der dritten Impfung mit einer grösseren Vaccindosis geht auch Nr. 10 zu Grunde.

Sectionsbefund von Nr. 10 u. 11. Peritonitis.

4. Experiment.

Immunisirung am 22. IV. 04. Vier Meerschweinchen (Nr. 13 Gew. 370^{grm}, Nr. 14 Gew. 350^{grm}, Nr. 15 Gew. 460^{grm} und Nr. 16 Gew. 450^{grm}.) werden mit Vaccin II subcutan geimpft. Pro 100^{grm} Thiergewicht erhält Nr. 13: 0·002 (Gesammtmenge 0·0074 Vaccin II), Nr. 14: 0·005 (Gesammtmenge 0·0175), Nr. 15: 0·0075 (Gesammtmenge Vaccin II 0·034) und Nr. 16: 0·01 (Gesammtmenge 0·045).

Am 23. IV. 04 zeigt sich bei Nr. 15 u. 16 an der Injectionsstelle ein Abscess, der sich nach einigen Tagen öffnet und nach 2 Wochen wieder vernarbt ist. Am 10. V. 04 werden die Thiere mit einer etwas höheren Dosis Nucleoproteïd, ausgenommen Nr. 15 u. 16, immunisirt; die Gesammtmenge beträgt für Nr. 13: 0·015, für Nr. 14: 0·024, für Nr. 15: 0·025 und für Nr. 16: 0·023. Nach 2 Tagen sind Nr. 14 u. 16 eingegangen.

Sectionsbefund: Peritonitis.

Am 25. V. 04 wird Nr. 13 mit 0·027 Gesammtmenge und Nr. 15 mit 0·039 Gesammtmenge zum dritten Male geimpft. Am folgenden Tage ist Nr. 15 etwas krank; jedoch nach 2 Tagen wieder munter.

Die Gesammtmenge des bei den drei Immunisirungen injicirten Vaccins beläuft sich für Nr. 13 auf 0·049 und für Nr. 15 auf $0·098^{grm}$.

Infection am 21. XII. 04. Beide Meerschweinchen werden mit der einfach tödtlichen Dosis, die in Folge der längeren künstlichen Fortzüchtung auf $^1/_3$ Oese pro 100^{grm} Thiergewicht gestiegen war, inficirt. Nachmittags sitzen die Thiere mit gesträubtem Haare im Käfig und fressen nicht; am anderen Morgen sind sie noch krank, besonders Nr. 15. An den darauf folgenden Tagen tritt auch keine Besserung ein. Nr. 15 ist am 26. XII. 04 und Nr. 13 am 27. XII. 04 eingegangen.

Sectionsbefund: Makroskopisch im Allgemeinen keine Besonderheiten an den Organen. Bei einem Thiere geringes Peritonealexsudat, bei beiden



waren die Nebennieren auffallend weich und blutreich. Die culturelle Prüfung des Blutes erwies dessen Sterilität, während sich im Peritonealexsudat Staphylokokken in geringer Zahl vorfanden. Choleravibrionen waren nicht mehr nachzuweisen.

5. Experiment.

Immunisirung am 30. IV. 04. Vergleichende Versuche zwischen Vaccin I und Vaccin II.

Je zwei Thiere erhalten pro 100^{grm} Gewicht 0·001 und 0·005 Vaccin I und II. Nr. 17 (Gewicht 320·0^{grm}) bekommt im Ganzen 0·0032 Vaccin I, Nr. 18 (Gewicht 320^{grm}): 0·0032 Vaccin II, Nr. 19 (Gewicht 320^{grm}): 0·016 Vaccin I und Nr. 20 (Gewicht 280^{grm}): 0·014 Vaccin II.
Am folgenden Tage sind Nr. 17 u. 20 eingegangen.

Sectionsbefund: Peritonitis.

Nr. 18 u. 19 werden nach 2 Tagen nochmals mit denselben Mengen Vaccin geimpft und nach 8 Tagen mit der doppelten tödtlichen Choleradosis inficirt.

1. **Infection am 10. V. 04.** Controlthier innerhalb 15 Stunden todt; die immunisirten Thiere etwas krank, jedoch nach 2 Tagen wieder munter.

2. **Infection am 27. V. 04** mit vier tödtlichen Dosen. Die Thiere überstehen auch diese Infection.

6. Experiment.

Immunisirung am 6. V. 04. Von vier gleichschweren Meerschweinchen (Nr. 21 bis 24 à 300^{grm}) werden je zwei mit 0·005^{grm} Vaccin I und Vaccin II pro 100^{grm} Thiergewicht geimpft. Gesammtmenge für das einzelne Thier ist 0·015^{grm} Vaccin. Normaltemperatur von Nr. 21 = 38·3^{0}, von Nr. 22 = 38^{0}, von Nr. 23 = 38·1^{0} und von Nr. 24 = 38^{0}.

Kurz nach der Injection zeigen Nr. 22, 23 und 24 leichte Krampfanfälle.

Am folgenden Tage sind Nr. 22 u. 24 krank. Die Temperatur ist auf 34·6 bezw. 35·8^{0} gesunken; die Gewichtsabnahme liegt zwischen 20 und 30^{grm}. Sie erholen sich wieder.

1. **Infection am 9. V. 04.** Nach 3 Tagen werden Nr. 23 u. 24 mit einer tödtlichen Minimaldosis inficirt. Controlthier stirbt innerhalb 24 Stunden an den Folgen der Infection, während die immunisirten Meerschweinchen am anderen Morgen vollkommen munter sind.

1. **Infection** von Nr. 21 u. 22 nach 7 Tagen mit zwei tödtlichen Choleradosen. Die Thiere bleiben gesund; Controle stirbt in der Nacht.

2. **Infection** von Nr. 21 bis 24. Nach 2 Wochen mit vier letalen Dosen virulenter Cultur. Keines der inficirten Thiere geht zu Grunde.

7. Experiment.

Immunisirung am 16. V. 04. Impfung von je zwei Meerschweinchen (Nr. 25, 26 u. 27 Gew. 300^{grm}; Nr. 28 Gew. 320^{grm}) mit 0·002 und 0·005 Vaccin I und II pro 100^{grm} Thiergewicht. Die Gesammtmenge des injicirten Nucleoproteïds beträgt für Nr. 25 u. 26: 0·006 Vaccin, für Nr. 27: 0·015 und für Nr. 28: 0·016.



Normaltemperatur von Nr. 25 = 38·2°, von Nr. 26 = 38·4°, von Nr. 27 = 38·2° und von Nr. 28 = 38°.

Am folgenden Tage sind die Thiere etwas krank und fressen wenig; die Temperatur ist etwas gestiegen und schwankt zwischen 39 und 39·3°. Das Gewicht ist bei den vier Thieren 20 ^{grm} geringer; sie werden mit der einfach tödtlichen Dosis inficirt.

1. Infection am 17.V. 04. Controle geht im Verlauf des anderen Morgens ein; die immunisirten Thiere scheinen ein wenig krank; erholen sich aber am 2. und 3. Tage vollkommen.

2. Infection am 3. VI. 04 mit fünf tödtlichen Dosen; am folgenden Tage sind die Thiere krank; erholen sich aber wieder vollkommen.

8. Experiment.

Immunisirung am 25.V. 04 von zwei Meerschweinchen (Nr. 29 Gew. 310 ^{grm} und Nr. 30 Gew. 360 ^{grm}) mit Vaccin I und II. Die Gesammtmenge der injicirten Substanz beträgt für Nr. 29: 0·0031 und für Nr. 30: 0·0036. Am folgenden Tage ist die Temperatur von 38·7 auf 39·2° bezw. von 38 auf 39·2° gestiegen; bei Nr. 30 eine leichte Abnahme des Gewichtes.

1. Infection am 2. VI. 04 mit zwei letalen Dosen Choleracultur. Controle am folgenden Tage todt. Die immunisirten Thiere munter.

2. Infection am 16. VI. 04 mit acht tödtlichen Dosen. Auch diese Infection wird gut überstanden.

9. Experiment.

Immunisirung am 27.VI. 04. Je zwei Meerschweinchen (Nr. 31 u. 32 Gew. 380 ^{grm}, Nr. 33 Gew. 360 ^{grm}, Nr. 34 Gew. 340 ^{grm}) werden mit 0·001 ^{grm} Vaccin I bezw. Vaccin II pro 100 ^{grm} Thiergewicht geimpft. Nr. 31 (Normaltemperatur 38·1°) erhält im Ganzen 0·0038 Vaccin I, Nr. 32 (Normaltemperatur 38°) dieselbe Menge Vaccin II, Nr. 33 (Normaltemperatur 38°): 0·0036 Vaccin I und Nr. 34 (Normaltemperatur 38°): 0·0034 Vaccin II.

Die beiden ersten Thiere werden nach 24 Stunden mit einer tödtlichen Dose inficirt; die Infection der beiden letzten erfolgt nach 48 Stunden mit zwei letalen Dosen virulenter Cultur.

Ausser einer geringen Erkrankung von Nr. 32 nach der Immunisirung ist besonders Nr. 33 erwähnenswerth. Das Thier zeigt ca. 6 Stunden nach der Vaccination alle Symptome einer schweren Intoxication; die Temperatur ist auf 35·6° gesunken, es reagirt nicht auf Schlag oder Stoss, frisst nicht und sitzt mit gesträubtem Haar und halbgeschlossenen Augen im Käfig. Trotz dieser schweren toxischen Erscheinungen ist das Thier am anderen Morgen wieder vollständig normal; die Temperatur ist wieder dieselbe wie vor der Immunisirung.

1. Infection von Nr. 31 u. 32 am 28.VI. 04 mit einer tödtlichen Dosis. Beide immunisirten Thiere sind am folgenden Morgen vollkommen normal, während die Controle todt ist.

1. Infection von Nr. 33 u. 34. Am 29.VI. 04 mit zwei tödtlichen Dosen. Nachmittags sind beide Thiere krank; desgleichen noch am nächsten Morgen; am 3. Tage nach der Infection sind sie wieder normal.



Tabelle zum 1. Experiment.

Immunisirung mit Vaccin I.

0·01, 0·015, 0·018 pro 100 grm Thiergewicht. 1. Infection nach 8 Wochen.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschw. in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammt-menge Vaccin	Datum der Immunisirung	Resultat der Immunisirung	Datum der 1. Infection mit einer tödtl. Dosis	Resultat der 1. Infection	Datum der 2. Infection mit zwei tödtl. Dosen	Resultat der 2. Infection	Todesursache
1	490	0·01	0·049	1. III 04	lebt	27. IV. 04	lebt	13. V. 04	lebt	
2	400	0·015	0·06	„	† 2. III. 04					an den Folgen der Vaccination
3	420	0·018	0·075	„	„					

Tabelle zum 2. Experiment.

Immunisirung mit Vaccin I.

0·005, 0·01, 0·015 pro 100 grm Thiergewicht. 1. Infection nach 6 Wochen.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschw. in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammt-menge Vaccin	Datum der Immunisirung	Resultat der Immunisirung	Datum der 1. Infection mit einer tödtl. Dosis	Resultat der 1. Infection	Datum der 2. Infection mit zwei tödtl. Dosen	Resultat der 2. Infection	Todesursache
4	370	0·005	0·018	17. III. 04	lebt	27. IV. 04	lebt	13. V. 04	lebt	
5	440	0·01	0·044	„	„	„	„	„	„	
6	500	0·015	0·075	„	† 19. III. 04					an den Folgen d. Vaccination

Controlthier zu Nr. 1, 4, 5 innerhalb 24 Stunden todt.



Tabelle zum 3. Experiment. **Immunisirung mit Vaccin I.**

0·005, 0·01, 0·015 pro 100 grm Thiergewicht. **1. Infection nach 14 Tagen.**

Fortl. Nummer	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der 1. Immunisirung 1904	Resultat der 1. Immunisirung 1904	Gew. d. Meerschw. bei der 2. Immunis.	Datum der 2. Immunisirung 1904	Menge Vacc. p. 100 grm Gew. b. d. 2. Immunis.	Gesammtmenge Vacc. bei der 2 Immunis.	Resultat der 2. Immunisirung 1904	Gew. des Meerschw. bei der 3. Immunisir.	Datum der 3. Imm. und Resultat 1904	Menge Vacc. p. 100 grm Gew. b. d. 3. Immunis.	Gesammtmenge Vacc. bei der 3. Immunisir.	Gesammtmenge Vacc. der drei Immunisir.	Datum d. 1. Infect. m. einer tödtl. Dosis 1904	Resultat d. 1. Infection	Datum der 2. Infect. mit 3 tödtl. Dosen 1904	Resultat d. 2. Infection	Todesursache
7	250	0·005	0·0125	19. IV.	lebt											5. V.	lebt	19. V.	lebt	
8	250	0·005	0·0125	„	„											„	„	„	„	
9	270	0·01	0·027	„	† 25. IV.															an den Folgen der Vaccination
10	270	0·01	0·027	„	lebt	330	10. V.	0·01	0·033	lebt	330	25. V. † am flg. Tage	0·015	0·049	0·109					
11	280	0·015	0·042	„	„	350	„	0·015	0·052	† 11. V.										
12	280	0·015	0·042	„	† 21. IV.															

Controlthier zu Nr. 7 und 8 am anderen Morgen todt.

Tabelle zum 4. Experiment. **Immunisirung mit Vaccin II.**

0·002, 0·005, 0·0075, 0·01 pro 100 grm Thiergewicht. **1. Infection nach ca. 7 Monaten.**

Fortl. Nummer	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der 1. Immunisirung 1904	Resultat der 1. Immunisirung 1904	Gew. d. Meerschw. bei der 2. Immunis.	Datum der 2. Immunisirung 1904	Menge Vacc. p. 100 grm Gew. b. d. 2. Immunis.	Gesammtmenge Vacc. bei der 2 Immunis.	Resultat der 2. Immunisirung 1904	Gew. des Meerschw. bei der 3. Immunisir.	Datum der 3. Imm. und Resultat 1904	Menge Vacc. p. 100 grm Gew. b. d. 3. Immunis.	Gesammtmenge Vacc. bei der 3. Immunisir.	Gesammtmenge Vacc. der drei Immunisir.	Datum d. 1. Infect. m. einer tödtl. Dosis 1904	Resultat d. 1. Infection	Datum der 2. Infect. mit 3 tödtl. Dosen 1904	Resultat d. 2. Infection	Todesursache
13	370	0·002	0·0074	22. IV.	lebt	390	10. V.	0·004	0·015	lebt	460	25. V.	0·006	0·027	0·049	21. XII.	† 27. XII			desgl.
14	350	0·005	0·0175	„	„	330	„	0·0075	0·024	† 12. V.										
15	460	0·0075	0·034	25. IV.	„	500	„	0·005	0·025	lebt	520	„	0·075	0·039	0·098	„	† 26. XII.			desgl.
16	450	0·01	0·045	„	„	470	„	0·005	0·023	† 12. V.										

Tabelle zum 5. Experiment. **Vergleichende Immunisirungen mit Vaccin I u II.**
0·001, 0·005 pro 100 grm Thiergewicht. (2 Schutzimpfungen mit gleicher Vaccinmenge.)
1. Infection nach 8 Tagen mit zwei tödtlichen Dosen.

Fortl. Nummer	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vacc. bei der 1. Immunisir.	Datum der 1. Immunisirung 1904	Resultat der 1. Immunisirung 1904	Gewicht des Thieres in grm bei der 2. Immunisirung	Datum der 2. Immunisirung 1904	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht bei der 2. Immunisirung	Gesammtmenge Vacc. bei der 2. Immunisir.	Gesammtmenge Vacc. der 2. Immunisirung zusammen	Resultat der 2. Immunisirung	Datum der 1. Infect. mit 2 tödtl. Dosen 1904	Resultat der 1. Infection	Datum der 2. Infect. mit 4 tödtl. Dosen 1904	Resultat der 2. Infection	Todesursache
17	320	0·001 (I)[1]	0·0032	30. IV.	† 1. V.											an d. Folgen d. Vaccination
18	320	0·001 (II)	0·0032	„	lebt	320	2. V.	0·001 (II)	0·0032	0·0064	lebt	10. V.	lebt	27. V.	lebt	
19	320	0·005 (I)	0·016	„	„	310	„	0·005 (I)	0·015	0·031	„	„	„	„	„	
20	280	0·005 (II)	0·014	„	† 1. V.											desgl.

Control-Meerschweinchen zu Nr. 18 u. 19 n. 15 Std. todt. [1] Die in Klammern beigefügten römischen Zahlen bedeuten Vaccin I bezw. II.

Tabelle zum 6. Experiment. **Vergleichende Immunisirungen mit Vaccin I u. II.**
0·005 pro 100 grm Thiergewicht. 1. Infection nach 7 bezw. 3 Tagen mit 1 bezw. 2 tödtl. Dosen.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschw. in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der Immunisirung	Resultat der Immunisirung	Datum der 1. Infection	Resultat der 1. Infection	Datum der 2. Infection mit 4 tödtl. Dosen	Resultat der 2. Infection
21	300	0·005 (I)	0·015	6. V. 04	lebt	13. V. 04 mit 2 tödtl. Dosen	lebt	27. V. 04	lebt
22	300	0·005 (II)	0·015	„	„		„	„	„
23	300	0·005 (I)	0·015	„	„	9. V. 04 mit 1 tödtl. Dosis	„	„	„
24	300	0·005 (II)	0·015	„	„		„	„	„

Controlthiere zu Nr. 21 bis 24 innerhalb 24 Stunden todt.

Tabelle zum 7. Experiment.

Vergleichende Immunisirungen mit Vaccin I und II.

0·002 und 0·005 pro 100 grm Thiergewicht. 1. Infection nach 24 Stunden mit einer tödtl. Dosis.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der Immunisirung	Resultat der Immunisirung	Datum der 1. Infection	Resultat der 1. Infection	Datum der 2. Infection mit fünf tödtl. Dosen	Resultat der 2. Infection
25	300	0·002 (I)	0·006	16. V. 04	lebt	17. V. 04	lebt	3. VI. 04	lebt
26	300	0·002 (II)	0·006	„	„	„	„	„	„
27	300	0·005 (I)	0·015	„	„	„	„	„	„
28	320	0·005 (II)	0·016	„	„	„	„	„	„

Controlthier zu Nr. 25 bis 28 innerhalb 24 Stunden todt.

Tabelle zum 8. Experiment.

Vergleichende Immunisirungen mit Vaccin I und II.

0·001 pro 100 grm Thiergewicht. 1. Infection nach 8 Tagen mit zwei tödtl. Dosen.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der Immunisirung	Resultat der Immunisirung	Datum der 1. Infection	Resultat der 1. Infection	Datum der 2. Infection	Resultat der 2. Infection
29	310	0·001 (II)	0·0031	25. V. 04	lebt	2. VI. 04	lebt	16. VI. 04	lebt
30	360	0·001 (I)	0·0036	„	„	„	„	„	„

Controlthier am anderen Morgen todt.



Tabelle zum 9. Experiment.

Vergleichende Immunisirungen mit Vaccin I und II.

0·001 pro 100 grm Thiergewicht.

1. Infection nach 24 Stunden mit einer tödtl. Dosis bezw. nach 48 Stunden mit zwei tödtl. Dosen.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der Immunisirung	Resultat der Immunisirung	Datum der 1. Infection mit 1 bezw. 2 tödtl. Dosen	Resultat der 1. Infection
31	380	0·001 (I)	0·0038	27. VI. 04	lebt	28. VI. 04	lebt
32	380	0·001 (II)	0·0038	,,	,,	,,	,,
33	360	0·001 (I)	0·0036	,,	,,	29. VI. 04	,,
34	340	0·001 (II)	0·0034	,,	,,	,,	,,

Controlthier zu Nr. 31 und 32 innerhalb 24 Stunden todt. Controlthier zu Nr. 33 und 34 desgl.

Tabelle zum 10. Experiment.

Immunisirung mit Vaccin I.

0·001 pro 100 grm Thiergewicht. Infection nach 3, 6 und 9 Stunden.

Fortl. Nr.	Gewicht des Meerschweinchens in grm	Menge Vaccin pro 100 grm Gewicht	Gesammtmenge Vaccin	Datum der Immunisirung	Normaltemp. kurz vor der Immunisirung	Datum der Immunisirung	Temperatur kurz vor der Infection	Resultat der Infection Nachmittags 6 Uhr	Resultat am folgenden Tage
35	300	0·001	0·003	28. VI. 04 Morgens 8^h	38·1	28. VI. 04 Morgens 11^h	38·8	schwer krank	munter
36	280	0·001	0·0028	,,	37·6	28. VI. 04 Nachm. 2^h	38·5	krank	,,
37	280	0·001	0·0028	,,	38·0	28. VI. 04 Nachm. 5^h	37·5	—	,,

Als Controlthier diente das von Nr. 31 und 32.



10. Experiment.

Immunisirung am 28. VI. 04. Impfung von drei Meerschweinchen (Nr. 35 Gew. 300^{grm}, Nr. 36 u. 37 Gew. 280^{grm}) mit je 0·001^{grm} Vaccin II pro 100^{grm} Thiergewicht. Die Gesammtmenge des injicirten Nucleoproteïds beträgt für Nr. 35: 0·003, für Nr. 36 u. 37: 0·0028^{grm}.

Normaltemperatur ist bei Nr. 35 = 38·1^0, bei Nr. 36 = 37·6^0 und bei Nr. 37 = 38^0.

Direct nach der Immunisirung hat Nr. 37 einen kurzen Krampfanfall.

Nach 3, 6 und 9 Stunden erfolgt je eine Infection mit einer tödtlichen Dosis. Als Controlthier dient dasselbe wie zu Nr. 31 u. 32.

Infection von Nr. 35 nach 3 Stunden, Morgens 11 Uhr. Nachmittags gegen 2 Uhr ist das Thier schwer krank und zeigt dieselben intensiven Vergiftungserscheinungen wie Nr. 33. Abends gegen 6 Uhr ist der Zustand noch derselbe; am nächsten Tag hat sich das Meerschweinchen vollkommen erholt.

Infection von Nr. 36 nach 6 Stunden, Nachmittags 2 Uhr. 3 Stunden nach der Infection ist das Thier krank, jedoch in geringerem Maasse als Nr. 35; am anderen Morgen wieder gesund.

Infection von Nr. 37 nach 9 Stunden, Nachmittags 5 Uhr. Das Thier zeigt 1 Stunde nach der Infection keine auffallenden Krankheitserscheinungen; am folgenden Tage munter.

Vergleichende Agglutinationsversuche.

Bekanntlich treten bei der activen und passiven Immunisirung im Blutserum des immunisirten Thieres neben anderen Körpern die Agglutinine auf.

Nach Polverini's Angaben soll das Agglutinationsphänomen mit dem Serum der nach dem Lustig'schen Verfahren immunisirten Thiere nicht eintreten, wenigstens nicht nach Injection von Pestvaccin. Er sagt nämlich: „Dieser Umstand (das Ausbleiben der Agglutination) erklärt sich dadurch, dass die Pferde mit Nucleoproteïd immunisirt werden, welches aus Pestculturen extrahirt ist und gewiss keine zur Agglutination neigende Substanz enthält." Hiermit bestreitet er auch das Auftreten von Agglutininen nach Immunisirungen mit dem Nucleoproteïd anderer pathogenen Mikroorganismen, z. B. der Cholera. Zur Aufklärung dieser Frage stellte ich daher mehrere Versuche an, wobei als Vergleich ein durch Immunisirung mit abgetödteten bezw. lebenden Vibrionen gewonnenes Serum diente.

Ich immunisirte je ein Kaninchen möglichst hoch mit dem Lustig'schen Impfstoff und Choleravibrionen in der Art, dass ich nicht eher eine höhere Dosis injicirte, als die durch die vorhergehende Vaccination ausgelösten Reactionen, wie verminderte Fresslust, Abnahme des Gewichtes und Temperaturerhöhung völlig überstanden waren.



Ca. 10 Tage nach der letzten Injection machte ich eine partielle Blutentnahme. Das Blut wurde in sterilen Gefässen aufgefangen und 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen gelassen. Das überstehende Serum pipettirte ich in sterile Glasröhren ab, schmolz dieselben zu und bewahrte sie so bis zum Gebrauch im Dunkeln und kühl auf.

Bei der Ausführung der Agglutinationsprobe verfuhr ich in folgender Weise: Zunächst bereitete ich mir in physiologischer Kochsalzlösung Serumverdünnungen in Concentrationen von 1:10, 1:50, 1:100, 1:200 u. s. w. durch Abzählen in Tropfen. Von diesen Verdünnungen gab ich in eine entsprechende Anzahl Röhrchen je 20 Tropfen mit der gleichen Pipette und vertheilte in jeder Tube eine Oese frischer Cultur in der Weise, dass ich dieselbe oberhalb des Flüssigkeitsniveaus an der Gefässwand abstrich, einen Tropfen Flüssigkeit mit der Platinöse hinzufügte und so lange verrieb, bis keine Klümpchen mehr sichtbar waren. Durch allmähliches Herabschwemmen der Vibrionen und Schräghalten des Röhrchens entsteht so eine völlig gleichmässige Emulsion.

Es ist dies ein Verfahren, wie es Kolle für die Widal'sche Reaction empfiehlt.

Durch makroskopische Beobachtung bei 37° in gewissen Zwischenräumen lässt sich eventuell unter Zuhülfenahme der Lupe der Eintritt und Verlauf der Agglutination genau erkennen, wie aus unten folgenden Tabellen leicht ersichtlich ist.

Das mit dem Lustig'schen Choleravaccin bereitete Serum zeigte nach einer Injectionsmenge von 0·25 ^{grm} einen Agglutinationstiter von 1:400. Durch weitere Behandlung des Thieres mit obigem Impfstoff stieg der Titer auf 1:1000 bei einer Gesammtmenge von 0·8 ^{grm} Vaccin. Ich möchte an dieser Stelle nicht unerwähnt lassen, dass in Folge der Vaccininjectionen in höherer Concentration als in 1 procent. Lösung (s. oben) im Unterhautzellgewebe nur eine verlangsamte Resorption stattfand, so dass anderenfalls ein weiteres Steigen des Agglutinationstiters angenommen werden kann.

In der gleichen Behandlungszeit betrug der Titer des durch Injection mit Choleravibrionen erhaltenen Serums 1:1000 und 1:3000.

Wenn es auch nicht möglich ist, einen vergleichenden Versuch anzustellen, bei welchem die verwendete Nucleoproteïdmenge genau der Quantität der injicirten Choleravibrionen entspricht, mit anderen Worten, da eine genaue quantitativ vergleichende Untersuchung unmöglich ist, so lässt sich dennoch unschwer erkennen, dass einerseits ein gewisser Unterschied im Immunitätsgrad nach der verschiedenen Immunisirung resultirt,



dass andererseits aber, was besonders in's Gewicht fällt, durch Injection steigender Dosen von Nucleoproteïd eine ausreichende Production specifischer Antikörper verursacht wird.

1. Agglutinationstabelle.
Titer des Nucleoproteïd-Serums nach Injection von 0·25 grm Vaccin.

Verdünnung:	1:10	1:50	1:100	1:200	1:300	1:400	1:500	Controle
Agglutination:								
Nach 5 Minuten	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 1/4 Stunde	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 1/2 „	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 1 „	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 2 Stunden	+	+	+	+	+	+	—	—

2. Agglutinationstabelle.
Titer des durch Injection von Vibrionen erhaltenen Choleraserums.

Verdünnung:	1:50	1:100	1:200	1:300	1:500	1:800	1:1000	1:1200	Controle
Agglutination:									
Nach 5 Minuten	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 1/4 Stunde	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 1/2 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 1 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 2 Stunden	+	+	+	+	+	+	+	—	—

3. Agglutinationstabelle.
Titer des Nucleoproteïd-Serums nach Injection von 0·8 grm Vaccin.

Verdünnung:	1:400	1:500	1:600	1:700	1:800	1:900	1:1000	1:1200	Controle
Agglutination:									
Nach 5 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1/4 Stunde	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1/2 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 1 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 2 Stunden	+	+	+	+	+	+	+	—	—

4. Agglutinationstabelle.
Titer des durch Injection von Vibrionen erhaltenen Choleraserums.

Verdünnung:	1:1000	1:1200	1:1500	1:2000	1:2500	1:3000	1:4000	Controle
Agglutination:								
Nach 5 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1/4 Stunde	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1/2 „	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 1 „	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 2 Stunden	+	+	+	+	+	+	—	—

Bordet's Nachweis von Immunkörpern.

Wie die zahlreichen Untersuchungen hervorragender Forscher beweisen, ist es nicht nur möglich gegen Bakterien und die von diesen secernirten Toxine, sowie gegen pflanzliche Gifte zu immunisiren, sondern auch gegen thierische, eiweissartige Gifte. Der Organismus reagirt auf Einverleibung solcher Stoffe mit der Production entsprechender Antikörper, welche in ihrer Wirkung gegen jene gerichtet sind. Die wichtigsten hierher gehörigen nicht bakteriellen Antikörper sind unzweifelhaft die von Bordet entdeckten Hämolysine, welche im thierischen Körper nach Einführung fremder Blutkörperchen gebildet werden.

Bei seinen Versuchen injicirte Bordet Meerschweinchen defibrinirtes Kaninchenblut in bestimmten Zwischenräumen mehrmals in die Bauchhöhle. Durch diese Behandlung gewann das Serum selbst in grossen Verdünnungen die Fähigkeit, Kaninchenblut, aber keine andere Blutart in vitro mit grosser Stärke aufzulösen, während normales Meerschweinchenserum sich Kaninchenblut gegenüber gar nicht hämolytisch erwies. Damit war die immunisatorische Erzeugung von specifischen Hämolysinen zum ersten Male festgelegt. Bordet konnte weiterhin zeigen, dass die Wirkung dieser specifischen Hämolysine auf der Anwesenheit zweier Substanzen im Serum beruht, nämlich der thermostabilen „substance sensibilisatrice“ und dem thermolabilen Alexin. Erwärmt man nämlich ein derartiges hämolytisches Immunserum 1/2 Stunde auf 56°, so verliert es seine blutlösende Eigenschaft, es wird inactiv. Fügt man nun zu diesem Serum etwas frisch gewonnenes, normales Blutserum hinzu, das an und für sich die zur Verwendung gekommenen Blutkörperchen nicht löst, in dem erwähnten Falle Bordet's, also Meerschweinchenserum, so gewinnt das inactivirte Kaninchenserum wieder hämolytische Kraft. Es zeigen also die



specifischen Hämolysine ein ganz analoges Verhalten wie die Bakteriolysine, die specifischen baktericiden Körper des Blutserums.

Wie weist man nun die durch Immunisirung im Serum des behandelten Thieres auftretenden specifischen Antikörper, welche Bordet „substances sensibilisatrices“, Ehrlich „Zwischenkörper“ oder „Amboceptoren“ und Metschnikoff „fixateurs“ nannte, nach?

Dank der geistreichen Arbeiten von Bordet und Gengou sind wir heute in der Lage, die durch künstliche antibakterielle Immunisirung in den Seren erzeugten Immunkörper in vitro nachzuweisen.

Das Bordet'sche Verfahren beruht auf folgenden Principien: Bei der Einwirkung inactivirten specifischen Serums auf Mikroorganismen verankern sich die Zwischenkörper auf diese und erst dadurch werden die Mikroorganismen für die Alexine und ihre Wirkung zugänglich. Diese in jedem frischen Serum vorhandenen Alexine bedingen die Zerstörung der rothen Blutkörperchen, wenn letztere mit einem auf 56° erwärmten für sie specifisch hämolytischen Serum sensibilisirt worden sind. Nach Bordet's Ansicht macht also die „substance sensibilisatrice“ das Bacterium für die Wirkung des Alexins empfänglich.

Wenn nun durch die Vaccination mit Choleranucleoproteïd im thierischen Organismus specifische Immunkörper ausgelöst werden, müssen diese nach der Bordet'schen Methode nachweisbar sein.

Zur Bereitung des hämolytischen Serums injicirte ich einem Kaninchen in Zwischenräumen von 8 Tagen 3 Mal je 5^{ccm} defibrinirtes Hühnerblut. Nach einem Monat entblutete ich das Thier unter sterilen Cautelen und erwärmte das erhaltene Serum zur Inactivirung, d. h. zur Vernichtung des Alexins $^1/_2$ Stunde auf 56°. Bei einer Prüfung auf seine hämolytischen Fähigkeiten zeigte dasselbe in Gegenwart von normalem frischem Serum ein energisches Hühnerblutkörperchen lösendes Vermögen.

Um den Nachweis der Anwesenheit von Immunkörpern im Serum des mit Choleranucleoproteïd behandelten Thieres zu erbringen, verfuhr ich nach den Angaben von Bordet, Gengou und Defalle in folgender Weise: 4 Tropfen einer dichten, in physiologischer Kochsalzlösung bereiteten Choleravibrionenemulsion gab ich in ein kleines Agglutinationsröhrchen, fügte nach dem Umschütteln 2 Tropfen Alexin hinzu und liess das Gemisch 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Inzwischen entnahm ich Blut von einem Huhn, defibrinirte es durch Schütteln mit Glasperlen und wusch es mehrere Male zur Entfernung des Alexins mit physiologischer Salzlösung aus. Zur Sensibilisirung lässt man auf 10 Tropfen der centrifugirten Blutkörperchen 20 Tropfen inactives, hämolytisches Serum ca. $^1/_2$ Stunde einwirken.



Als Controle verwandte ich je ein Röhrchen mit inactivem und activem Normalserum.

Wie bei dem Agglutinationsversuche diente auch bei dem Nachweise der Immunkörper nach dem Bordet'schen Verfahren als Vergleich das durch Vaccination mit Choleravibrionen erhaltene Serum.

Ausführung.

1. Röhrchen: 4 Tropfen Choleravibrionenemulsion und 12 Tropfen inactives Nucleoproteïdserum und 2 Tropfen Alexin.

2. Röhrchen: 4 Tropfen Choleravibrionenemulsion und 12 Tropfen inactives Choleraserum und 2 Tropfen Alexin.

1. Controlröhrchen: 4 Tropfen Choleravibrionenemulsion und 12 Tropfen inactivirtes Normalserum und 2 Tropfen Alexin.

2. Controlröhrchen: 4 Tropfen Choleravibrionenemulsion und 12 Tropfen Normalserum und 2 Tropfen Alexin.

Nach 6stündigem Stehenlassen des Gemisches von specifischem Serum, Vibrionen und Alexin gab ich in jedes Röhrchen 2 Tropfen sensibilisirte Hühnerblutkörperchen, beobachtete 1 Stunde bei 37° und dann innerhalb 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Sind in dem verwendeten Immunserum specifische Zwischenkörper enthalten, so wird das Alexin des Normalserums durch diese gebunden und in Folge dessen bleiben die Hühnerblutkörperchen intact. Im anderen Falle ist das Alexin frei und es vermag dann in Verbindung mit den Hämolysinen seine Eigenschaften zu entfalten, wodurch das Gemisch lackfarben wird.

In den beiden ersten Röhrchen mit Nucleoproteïdserum und Choleraserum trat keine Hämolyse ein; es waren also specifische Immunkörper vorhanden. In den Controlröhrchen waren die rothen Blutkörperchen grösstentheils aufgelöst, was die Abwesenheit von specifischen Immunkörpern bewies.

Dieser Versuch wurde mehrere Male wiederholt; das Ergebniss war immer dasselbe.

Die Resultate dieser Untersuchungen bestätigen auf's Neue analog den Resultaten des Agglutinationsversuches, dass durch Immunisirung mit Choleranucleoproteïd eine deutliche Production specifischer Antikörper veranlasst wird.

Resultate.

Die aus der vorliegenden Arbeit sich ergebenden Resultate lassen sich kurz in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Das nach dem Lustig'schen Verfahren aus Choleravibrionen extrahirte Nucleoproteïd wirkt in grossen Dosen auf den thierischen



Organismus stark toxisch; aber auch in kleineren Dosen treten bisweilen giftige Erscheinungen ein.

2. Bezüglich der Toxicität besteht kein Unterschied zwischen dem einer virulenten oder avirulenten Cultur entstammenden Nucleoproteïd.

3. Dagegen bestehen bei Thieren gleicher Gattung individuelle Schwankungen bezüglich ihrer Empfindlichkeit.

4. Nach einer einmaligen oder in kurzen Zwischenräumen wiederholten Vaccination mit einer kleinen Dosis ruft das Choleranucleoproteïd einen hohen Immunitätsgrad hervor.

5. Die Immunität tritt innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Impfung ein und dauert je nach der Quantität des injicirten Vaccins mehrere Monate.

6. In dem Serum des mit dem Vaccin immunisirten Thieres treten specifische Agglutinine auf.

7. Mittels des Bordet'schen Versuches sind in dem Nucleoproteïdserum specifische Immunkörper nachweisbar.

Schlussfolgerung.

Aus meinen „Untersuchungen über das nach der Lustig'schen Methode bereitete Choleravaccin" ergiebt sich, dass das nach diesem Verfahren erhaltene Nucleoproteïd im thierischen Organismus einen sicheren Schutz gegen eine künstliche Cholerainfection hervorzurufen vermag.

Beim Abschluss dieser Arbeit spreche ich Hrn. Prof. Dr. Tavel, sowie seinem Assistenten, Hrn. Privatdocent Dr. Heller, Chef der Pest- und Wuthabtheilung, für das Interesse, das sie meinen Untersuchungen entgegenbrachten, meinen besten Dank aus.



Litteratur-Verzeichniss.

Bang, J., Ueber Nucleoproteïde und Nucleïnsäuren. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Jahrg. XXVII.

Bendix, Zur Chemie der Bakterien. *Ebenda.* 1901.

Bertarelli, E., Ueber die active Immunisirung des Menschen gegen Cholera vermittelst autolytischer Producte des choleragenen Vibrio und über das Wesen dieser autolytischen Producte. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905. Bd. XXXVIII. Abth. I.

Besredka, De l'immunisation active contre la peste, le choléra et l'infection typhique. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902. T. XVI.

Cruz, G., Vaccin contre la peste. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1902. Bd. XXXII. Abth. I.

Defalle, W., Recherches sur les anticorps des spores. *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1902. T. XVI.

Deutsch und Feistmantel, *Die Impfstoffe und Sera.* Leipzig 1903.

von Dungern, Ist die Virulenz der Cholerabacillen abhängig von ihrer Giftigkeit? *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XX.

Galeotti, Ricerche sull' immunizzazione delle cavie contro la peritonite colerica. *Lo sperimentale.* 1896.

Derselbe, Sulle inoculatione preventive contro la peste bubbonica. *Ebenda.* 1899.

Galeotti und Malenchini, Experimentelle Untersuchungen bei Affen über die Schutzimpfung und Serumtherapie gegen Bubonenpest *Centralblatt für Bakteriologie.* 1897. Abth I. Bd. XXII. Nr. 18 u. 19.

Gengou, Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoides. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902. T. XVI.

Hammarsten, Zur Kenntniss der Nucleoproteïde. *Zeitschrift für physiolog. Chemie.* 1894. Bd. XIX.

Kolle, Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung des Menschen gegen Cholera asiatica. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 1.

Derselbe, Zur activen Immunisirung des Menschen gegen Cholera. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Bd. XIX.

Kossel, A., Ueber den gegenwärtigen Stand der Eiweisschemie. *Bericht der deutschen chem. Gesellschaft zu Berlin.* 1901. Bd. XXXIV.

Lustig and Galeotti, The prophylactic and curative treatment of plaguer. *Brit. med. Journal.* 1901. Vol. I.

Dieselben, Remarks on preventive inoculation against bubonic plague. *Ebenda.* 1900. Nr. 1.



Lustig e Galeotti, Intorno l'azione del nucleo proteïde estratto dai bacilli della peste bubbonica, sul sistima circulatorio. *Sperimentale.* 1898. Fasc. 1.

Dieselben, Versuche mit Pestschutzimpfung bei Thieren. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 15 u. 19.

Lustig, Relazione sul risultato delle ricerche fatte in India negli animali e nell' uomo intorno alle vaccinazione preventiva contro la peste bubbonica e alla sieroterapia. (Estratto dai Rendiconto del R. Istituto di Studi superiori pratici e di perfezionamento in Firenze. *Sezione di Medicina e di Chirurgia.* Firenze.)

Derselbe, Intorno alla vaccinazioni preventiva contro la peste bubbonica. *La clinica moderna.* 1901. Anno VII. Nr. 49.

Pfeiffer, Immunisirende Wirkung der Choleravibrionen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901.

Derselbe, Ein neues Grundgesetz der Immunität. *Ebenda.* 1896. Nr. 7 u. 8.

Pfeiffer und Marx, Ueber Schutzimpfung gegen Cholera und Typhus mit conservirtem Impfstoff. *Ebenda.* 1898.

Polverini, Serumtherapie gegen Beulenpest. *Münchener med. Wochenschrift.* 1903.

Strong, Protective inoculation against asiatic cholera. *Biochemisches Centralblatt.* 1905. Bd. III. Nr. 21.

Tavel, Krumbein u. Glücksmann, Ueber Pestschutzmaassregeln. *Diese Zeitschrift.* 1902. Bd. XL.

Tiberti, Ueber die immunisirende Wirkung des aus dem Milzbrandbacillus extrahirten Nucleoproteïds. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904.

Voges, Die Choleraimmunität. *Ebenda.* 1896.



[Aus dem pathologischen Institut zu Leipzig.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Marchand.)

Beitrag zur pathologischen Histologie der experimentellen Trypanosomen-Infection (mit Trypanosoma Brucei).

Von

Ernst Sauerbeck
in Basel.

(Hierzu Taf. I u. II.)

Die Trypanosomen sind, seitdem Bruce ihre Bedeutung für die Pathologie entdeckt hat, der Gegenstand ziemlich zahlreicher Untersuchungen gewesen. Insbesondere gilt dies von dem Trypanosoma der Nagana oder Tsetsekrankheit, der erstbekannten pathogenen Art.

Während nun die Biologie des Erregers, sowie Entstehungsweise, klinisches Bild und Ausgang der Trypanosomen-, hauptsächlich der Tsetsekrankheit sehr rasch eine ziemlich erschöpfende Darstellung fanden,[1] sind die pathologisch-anatomischen Veränderungen des inficirten Organismus nur ungenügend berücksichtigt worden.

Wohl fehlt kaum in einer Arbeit ein Capitel, das Aufschluss über die pathologische Anatomie verspricht; aber über die Aufzählung einiger

---

[1] Was die Biologie der Trypanosomen betrifft, so lassen die neuesten Untersuchungen von Schaudinn, „Ueber Generations- und Wirthswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete" (*Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*, 1904, Bd. XX, S. 387 bis 439), sowie seines Schülers Prowazek, „Ueber die Entwickelung von Herpetomonas, einem mit den Trypanosomen verwandten Flagellaten" (*Ebenda*, 1904, Bd. XX, S. 440—452) allerdings daran zweifeln, dass das letzte Wort schon gesprochen sei. Auf einige der Fragen, die noch als offen zu betrachten sein dürften, werden wir im Texte zu sprechen kommen.



makroskopischer Obductionsbefunde gehen die Angaben nicht hinaus; es werden insbesondere hyperämische Vergrösserung der Milz und Schwellung der Lymphdrüsen namhaft gemacht.

Und doch lagen gerade bei dieser Infectionskrankheit Gründe vor, den histologischen Veränderungen ganz besondere Aufmerksamheit zu schenken.

Zwei Arten von Veränderungen scheinen es wesentlich zu sein, mit denen der Organismus auf Infection zu antworten pflegt; einerseits die Erzeugung von Stoffen, die geeignet sind, die Infectionserreger oder deren Producte auf chemischem Wege unschädlich zu machen, andererseits die Entwickelung von theils sesshaften, theils wandernden Zellen, „Phagocyten", die die Fähigkeit besitzen, die Infectionserreger in sich aufzunehmen und zu verdauen.

Es mag der Gedanke als ein nicht unberechtigter erscheinen, dass eine chemische Rückwirkung des inficirten Körpers am ehesten da zu erwarten sei, wo die Einwirkung auf ihn eine chemische oder vorwiegend chemische ist — also insbesondere bei bakterieller Infection — eine mehr weniger ausschliesslich phagocytäre dagegen da, wo die Infectionsmasse mehr als chemisch indifferenter Fremdkörper wirkt.

Für einen Organismus von der Art der Trypanosomen war nun eine ausgeprägt chemische Wirkung kaum zu erwarten. Die Versuche, die die Prüfung dieser Frage zum Ziele hatten, ergaben auch ein vollständig negatives Resultat: ein Gift war aus den Trypanosomen in keiner Weise zu erhalten. (Vgl. Kanthack, Durham und Blandford, S. 112, sowie Laveran und Mesnil, Seite 43ff.)

Es hätte also der andere Gedanke an eine Gegenwehr phagocytärer Natur wohl eingehend geprüft werden dürfen, um so mehr, als, wie wir sahen, gerade Milz und Lymphdrüsen, Hauptstätten der Phagocytenbildung, sich unzweifelhaft betheiligt, und zwar vergrössert zeigten. Denn die Vermuthung, dass diese Vergrösserung auf Vermehrung der Parasiten in diesen Organen zurückzuführen sei — wie sie sich zunächst bei Kanthack, Durham und Blandfort, aber auch noch an einer Stelle (S. 460) der Arbeit von Bradford und Plimmer (übrigens im Widerspruch mit einer anderweitig geäusserten [S. 463] wahrscheinlicheren Deutung [s. u.]) findet — ist weiter nicht ernstlich vertheidigt worden.

Dass die Gesammtheit der Erscheinungen auf die Annahme phagocytärer Vorgänge hindränge, haben die neueren Autoren nun allerdings keineswegs verkannt. Die Arbeit von Kanthack, Durham und Blandford 1899, die zeitlich an der Spitze steht, lässt eine hierher gehörende Aeusserung allerdings vermissen; ihnen scheint die erwähnte Erklärung der Milz- und Lymphdrüsenvergrösserung — durch Vermehrung der Parasiten — genügt zu haben. Bradford und Plimmer 1901 jedoch meinten schon, dass „wahr-



scheinlich bei allen Thieren wenigstens ein Versuch der Gegenwehr gemacht wird, und dass dieser, so viel zu sehen, in Phygocytose besteht" (S. 463). Als thatsächliche Basis ihrer Vermuthung führen sie die directe Beobachtung[1] der Phagocytose im Peritonealexsudat des Meerschweinchens, in der Milz von Ratte und Maus und im Blut entmilzter Thiere an (s. S. 468 und Figg. 44 und 45 auf Taf. 25 ihrer Abhandlung). Da sie ferner entmilzte Thiere ausnahmslos früher als Controlthiere sterben sahen, sind sie sehr geneigt, der Milz, wenigstens für das Frühstadium der Infection, „ein gutes Theil der Phagocytose" zuzuschreiben.

Eingehende Aufmerksamkeit haben der Frage besonders Laveran und Mesnil zunächst in einer Studie über die Infection mit Trypanosoma Lewisi zugewandt; sie kommen zum Schluss, dass nicht nur die Heilung und die ihr folgende active Immunität, sondern auch die allerdings nur sehr beschränkt zu erreichende passive Immunität auf Vorgängen zellulärer Natur beruhen. „Bei der activen, wie bei der passiven Immunität," sagen sie gegen Ende der Abhandlung (S. 713 oben), „scheint es sich um Stimulation der Leukocytenbildung, [„stimulation leucocytaire"] zu handeln." Dass sich die Autoren diese durch Phagocytose wirksam denken, geht aus dem Vorhergehenden, insbesondere aus dem Bericht über intraperitoneale Infection mit wünschenswerther Deutlichkeit hervor, wo es heisst (S. 706 oben): „Die Zerstörung der Trypanosomen durch die Leukocyten ist die einzige Art der Zerstörung, die wir bei der Entwickelung der activen Immunität beobachtet haben (vgl. Textfig. 17 und die Figg. 10 bis 15 auf Taf. XI), und wir zaudern nicht, sie als die einzige überhaupt vorkommende anzusehen."

Wenn man also die Ueberzeugung, dass bei der Trypanosomeninfection der inficirte Organismus sich keineswegs passiv verhält, allmählich in der Annahme eines phagocytären Widerstandes sich festigen sieht, so kann man sich doch keineswegs verhehlen, dass es sich hier grossentheils mehr um den Ausdruck eines theoretischen Bedürfnisses, als um das Ergebniss genauer Erhebungen handelt, dass die obigen Behauptungen somit der thatsächlichen Begründung noch sehr bedürftig sind. Eine solche war aber nur von einer genauen histologischen Untersuchung, insbesondere derjenigen Organe, die mit der Phagocytose in Zusammenhang stehen, zu erwarten.

Auch zu einer solchen sind nun freilich, abgesehen von den erwähnten Angaben über die Vorgänge im Peritonealexsudat, die ja für die natürliche Infection nicht in Betracht kommen, Ansätze, aber eben nur Ansätze vorhanden.

[1] Wir kommen auf sie später zurück.



So beobachtete Martini, dass das Trypanosoma Brucei in Abstrichen besonders von der Milz fast nur in Degenerationsformen angetroffen wird und schliesst hieraus auf eine Zerstörung der Trypanosomen in diesem Organ — auch in Lymphdrüsen und Knochenmark.

Die meisten Autoren haben sich, wie Martini, mit Abstrichpräparaten der wichtigsten Organe begnügt. Laveran und Mesnil scheinen dagegen auch Schnitte angefertigt zu haben; zu einer eingehenden Prüfung derselben sind sie jedoch offenbar nicht gekommen. Sonst wäre die Aeusserung kaum verständlich, dass die Milz z. B. abgesehen von der Hyperämie sich histologisch unverändert zeige (Abhandlung über das Trypanosoma Brucei, S. 42) oder die ganz allgemeine Bemerkung, die sich ebenda findet, dass die histologischen Veränderungen bei der Trypanosomeninfection überhaupt „die denkbar geringsten“ seien („le moins de lésions“). Eine histologische Verfolgung der Infection mit Trypanosoma Lewisi haben Rabinowitsch und Kempner zwar vor zwei Jahren in Aussicht gestellt; sie ist aber meines Wissens bis jetzt nicht erschienen.

Das Bedürfniss nach einer genauen Kenntniss von Art und Umfang der phagocytären Processe ist aber durch besondere Umstände neuerdings sehr dringend geworden, indem beim Menschen nicht unbeträchtliche und sehr interessante histologische Veränderungen beobachtet wurden bei einer Krankheit, die der Trypanosomiasis zum mindesten nahe verwandt zu sein scheint. Wir haben hier die Arbeit im Auge, die Anfangs vorig. Jahres Marchand und Ledingham „über Infection mit Leishman'schen Körperchen (Kala-Azar?) und ihr Verhältniss zur Trypanosomenkrankheit“ veröffentlicht haben. Der Fall, der dieser Mittheilung zu Grunde liegt, war klinisch zunächst durch unregelmässiges Fieber und Anämie — später kam Lungenphthise dazu — charakterisirt, anatomisch — abgesehen von den tuberculösen Veränderungen der Lungen — hauptsächlich durch Milzvergrösserung und rothes Knochenmark; bei der histologischen Untersuchung, die hier besonders interessirt, wurden in Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark und Leber eine bedeutende Menge grosser Zellen vom Charakter der bekannten Makrophagen gefunden und in diesen Zellen wiederum eigenthümliche Körnchen in grosser Zahl. Weder die Herleitung von einem ausgedehnten Kernzerfall, noch eine Zusammenstellung mit den bekannten — protozoïschen — Mikroparasiten schienen Marchand befriedigend.

Aehnliche Körnchen hatte Leishman in einem Fall von tropischer Splenomegalie im Milzsaft gesehen, ebenfalls, ohne zu einer endgültigen Ansicht über ihre Natur zu kommen. Ein glücklicher Zufall liess diesen Forscher jedoch bald darauf beim Studium der künstlichen Trypanosomiasis der Ratten auf Gebilde stossen, die mit den bewussten Körnchen oder



Körperchen eine sehr grosse Aehnlichkeit hatten. Leishman stand nicht an, auch für seinen menschlichen Fall eine Trypanosomeninfection vorauszusetzen.

Die Leishman'schen Körperchen bestehen, um auf ihren Bau etwas näher einzugehen, aus einer schwach färbbaren Masse, augenscheinlich Protoplasma, von rundlicher Gestalt und 2 bis 3 μ Durchmesser; in dieser Masse liegen zwei Chromatinkörper, die sich mit Kernfarbstoffen färben, ein grösserer, ungleichmässig, meist in Ringform gefärbter, und ein kleinerer, dunkler.

Das normale Trypanosoma besteht aus einem Protoplasmakörper, ähnlich dem des Lanzettfischchens, der auf der einen Seite von einem flossenartigen Gebilde gesäumt wird, das am einen Ende, dem Vorderende, in eine lange, zarte Geissel ausläuft. Dieser Leib enthält zwei Chromatinkörper, einen grösseren, ungleichmässig gefärbten, und einen kleineren, dunklen; ersterer liegt etwa in der Mitte, letzterer dem hinteren Ende genähert; in ihm wurzelt die Geissel, die über den ganzen Flossensaum rückwärts verläuft, daher er auch als „Geisselwurzel" dem anderen, dem „Kern", gegenübergestellt worden ist.

Wie ersichtlich, bietet die Zurückführung der Leishman'schen Körperchen auf das Trypanosoma zunächst theoretisch keine Schwierigkeiten. Beide bestehen aus den gleichen Elementen, nur die Geissel fehlt im einen Fall.

Gegenüber den Trypanosomenformen, die Leishman in den Leichen von Ratten gefunden hatte, zeigten nun die Körperchen des Menschen auch thatsächlich überhaupt keinen wesentlichen Unterschied.[1]

Marchand hat sich der Deutung Leishman's, die im Uebrigen nicht ohne Widerspruch geblieben ist (s. die Arbeit von Marchand und Ledingham, S. 24f.), angeschlossen, immerhin mit der Abweichung, dass er zwar eine nahe Verwandtschaft der beiderseitigen Organismen voraussetzt, aber, mit Rücksicht auf die in Anmerkung S. 31 erwähnten Untersuchungen Schaudinn's über den Generationswechsel der Blutparasiten, die Frage offen lässt, ob in seinem und ähnlichen Fällen die Trypanosomen auch als solche im Menschen leben, oder nur als ein Entwickelungsstadium, das eben in den Marchand-Leishman'schen Körperchen gegeben wäre. Die vielfachen verfehlten Versuche späterer Autoren, in Fällen, wo die Körperchen vorhanden waren, nun auch die Trypanosomen nachzuweisen, mochten diese Vorsicht gerathen erscheinen lassen. Marchand hat sich

[1] Ich selbst fand in den runden Trypanosomenformen meiner Versuchsthiere, wie unten erwähnt, die Geisselwurzel nur ausnahmsweise, die bei den Marchand-Leishman'schen Körperchen ein regelmässiges Vorkommniss zu sein scheint.



übrigens selbst durch die Untersuchung einiger Tsetseratten überzeugt, dass bei zweifelloser Trypanosomeninfection nicht nur Körperchen vorkommen, die von den beim Menschen gefundenen in der That kaum zu unterscheiden sind, er konnte auch feststellen, dass die histologischen Veränderungen in beiden Fällen offenbar viel Verwandtes haben.

Die Verhältnisse der experimentellen Trypanosomeninfection vom histologischen Standpunkt aus einer genaueren Bearbeitung zu unterziehen, fand ich im Sommer 1904 im Institut des Hrn. Geheimrath Marchand die Gelegenheit. Für das rege Interesse, das er meiner Arbeit stetsfort entgegenbrachte, bin ich Hrn. Geheimrath Marchand zu tiefem Danke verpflichtet.

Material, Methode, Technik.

Meine Untersuchungen erstreckten sich ausschliesslich auf das Trypanosoma Brucei.

Es ist zuzugeben, dass vom allgemein-pathologischen Standpunkt aus — unter Hinblick auf die Fragen der Immunität — der vorübergehenden Infection, wie sie durch Trypanosoma Lewisi bei weissen Ratten zu erreichen ist, ein grösseres Interesse zugeschrieben werden kann; wenn ich hier trotzdem zunächst der tödtlichen Abart der Trypanosomiasis meine Aufmerksamkeit zugewandt habe, so war hier wesentlich die Ueberlegung maassgebend, dass aller Voraussicht nach dieselben Vorgänge, die im ersten Fall zur Vernichtung des Infectionserregers führen, sich auch im zweiten Falle abspielen werden, dass dies aber, wegen fortdauernder Einwirkung des Reizes von Seiten des überwuchernden Parasiten, noch in gesteigertem Maasse der Fall sein und dass die Veränderungen sich dementsprechend der Untersuchung leichter zugänglich zeigen werden.

Die Parasiten stammten aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin; sie waren seiner Zeit Hrn. Geheimrath Marchand durch Hrn. Stabsarzt Martini zur Verfügung gestellt und dann im Leipziger pathologischen Institut in Ratten und Kaninchen weitergezüchtet worden.

Es wurden geimpft von normalen Thieren:

über 20 weisse Ratten,
5 Meerschweinchen,
3 Kaninchen,
2 Hunde;

ausserdem eine Anzahl von Thieren, denen aus später zu erörternden Gründen vor der Infection die Milz exstirpirt worden war, und zwar:

3 entmilzte Ratten,
4 entmilzte Kaninchen,
1 entmilzter Hund.



Die Infection war in diesen Fällen erst längere Zeit (5 Tage bis mehrere Wochen) nach der Entmilzung vorgenommen worden. Alle Thiere habe ich in tiefer Narkose entmilzt. Die Kaninchen und der Hund ertrugen die Operation auf's Beste; auf die drei gelungenen Operationen bei Ratten kamen drei Todesfälle. Der Tod trat erst spät, nach mehreren (bis 9) Tagen ein, ohne anatomisch nachweisbare Ursache; ein Einfluss der Narkose ist wohl nicht ausgeschlossen, wenn schon das Minimum des Narkoticums in starker Verdünnung zur Verwendung kam. Ich möchte daher auf die Lebensdauer der entmilzten und nachher inficirten Ratten kein grosses Gewicht legen.

Gegenstand der Untersuchung mussten sein:

1. die Veränderungen, die die Parasiten erleiden während ihres Aufenthaltes im lebenden, circulirenden Blut;
2. die Veränderungen, die die Parasiten im Blut der Gefässe und in den Organen unter dem Einfluss cadaveröser Processe eingehen;
3. die Veränderungen, die die Parasiten in den lebenden Organen erfahren.

Behufs Feststellung der ersterwähnten Veränderungen wurde den lebenden Thieren je nach Dauer der Krankheit mehr oder weniger oft Blut aus dem Ohr oder — bei Ratten — aus dem Schwanz entnommen, und frisch, sowie auf dem Objectträger fixirt und gefärbt, untersucht.

Für Punkt 2 kam die frische Verarbeitung, sowie auch die nach Fixirung und Färbung, von Ausstrichen in Betracht, die vom Herzblute, sowie von den Organen verschiedene Zeit nach dem Tode hergestellt wurden.

Die vitalen Veränderungen in den Organen endlich wurden hauptsächlich an Schnitten unter Berücksichtigung allfälliger Veränderungen der vorhergenannten Art studirt.

Meist wurde, um die pathologischen Vorgänge im Körper möglichst weit gedeihen zu lassen, der natürliche Ausgang der Krankheit abgewartet. Dies hatte allerdings zur Folge, dass die Thiere meist erst mehrere Stunden nach dem Tode zur Section kamen, zumal sie oft über Nacht eingingen. Dass mehrstündiges Liegen der Thierleichen bei Zimmertemperatur den Nachweis der Trypanosomen nicht ausschliesst, war schon den Angaben von Marchand zu entnehmen, der seine Beobachtungen über das Schicksal der Trypanosomen im Rattenkörper an Thieren angestellt hatte, die mindestens 12 Stunden, wahrscheinlich noch beträchtlich länger todt waren.

Eigene Controlversuche haben mich überzeugt, dass sofortiges Seciren nach natürlichem Tod oder Tödtung in extremis keinen wesentlichen Vortheil hat — abgesehen von den Befunden im Blut des Herzens und grösserer Gefässe, die hier weniger interessiren — (an Ratten und Kaninchen festgestellt).

Die histologische Untersuchung erstreckte sich auf fast alle lebenswichtigen Organe: Centralnervensystem, Herz, Lungen, Nieren, Leber, Milz



Lymphdrüsen, Knochenmark; Milz und Leber wurden in allen Fällen — ausgenommen natürlich die entmilzten Thiere — untersucht; in zahlreichen Fällen auch Lymphdrüsen und Knochenmark, sowie die Lungen; selten Herz und Nieren; nur in ausgesuchten Fällen das Centralnervensystem.

Die Organe wurden in reinem Formol von 5 Procent, in Müller-Formol, Zenker'scher Flüssigkeit, Sublimatessigsäure und Alcohol absolutus fixirt. Im Laufe der Untersuchung habe ich die im Alkohol fixirten Organstücke vorgezogen, soweit es mir vorzüglich auf die Parasiten ankam, da mir hier die Färbung des Blutes mehr als Nachtheil, denn als Vortheil erschien. Zur Entscheidung histologischer Fragen wurden auch die anderen Präparate zu Rath gezogen. Eingebettet wurde durch Vermittelung von Xylol in Paraffin. Die Schnitte wurden in einer Dicke hergestellt von meist 3 bis 4 μ — nur selten dünner oder dicker — für Milz, Leber, Knochenmark, auch Nieren; von 4 bis 5, selten weniger oder mehr, für Lymphdrüsen; 5 bis 7, hier und da dünner, bis 3 μ, für die Lungen sowie das Herz. Auf den Objectträger übertragen wurden die Schnitte durch Auffangen in Wasser ohne Verwendung von Klebemittel (ausser bei Zenkerpräparaten) mit Antrocknen bei Zimmer- oder Brüttemperatur. Gefärbt wurde hauptsächlich mit Hämatoxylin-Eosin, sowie nach van Gieson; seltener mit polychromem Methylenblau und Fuchsin. Für Abstriche bewährte sich das Reuter'sche Methylenblau-Eosingemisch vorzüglich (bezogen bei Grübler, etwa mit dem 20 fachen Volumen Wasser verdünnt, bei Einwirkung von ungefähr 24 Stunden). Zum Studium der Präparate benützte ich eine Immersion $^1/_{12}$ von Zeiss, mit dem gewöhnlichen Ocular 4, Gesamtvergrösserung bei 16 ^{cm} Tubuslänge 950; es erwies sich diese Kombination als genügend. Die Zeichnungen wurden frei entworfen in der Vergrösserung, die der Projection auf die Höhe des Objecttisches entspricht, bei einer Tubuslänge von 14 ^{cm}; Vergrösserung also ca. 900. —

Bei der Blutuntersuchung am lebenden Thier handelte es sich übrigens für mich auch darum, das Herannahen des Todes vorauszusehen, um die terminale Menge der Parasiten, die für Beurtheilung des histologischen Befundes von Bedeutung war, feststellen zu können; ferner aber auch darum, die Symptome des Sterbens zu beobachten. Es schien mir dieser letztere Punkt von besonderer Bedeutung zu sein, weil gerade die eigentliche, letzte Ursache des Todes noch sehr im Dunkel liegt; von den agonalen Erscheinungen konnte man in dieser Hinsicht wohl einige Aufklärung erhoffen; für den pathologischen Anatomen war aber ausserdem ein Fingerzeig für die Richtung seiner Forschungen nicht ausgeschlossen.

Klinisches Verhalten der Thiere und Auftreten der Parasiten im Blute.

Durch die Untersuchungen der Autoren ist sattsam bekannt, dass die Infection bei den verschiedenen Versuchsthieren sehr verschieden rasch zum Ende führt. Es geben als absolute oder durchschnittliche Lebensdauer an:



	Kanthack, Durham und Blandford 1899		Bradford und Plimmer 1901
für Mäuse . . .	(8 bis 25)	13 Tage	6 bis 9 Tage
„ w. Ratten . .	(6 „ 26)	12 „	5 „ 9 „
„ Meerschw. . .	(20 „ 183)	50 „	„ 18 Wochen
„ Kaninchen . .	(13 „ 58)	30 „	„ 3 Monate
„ Hunde . . .	(14 „ 26)	18 „	

	Laveran und Mesnil 1902	Neuerdings Jakimoff
für Mäuse . / „ w. Ratten	$3^1/_2$ bis $5^1/_2$ Tage	3 bis 6 Tage
„ Meerschw.	5 „ 61 „ u. mehr	8 „ 42 „
„ Kaninchen	5 „ 40 „	11 „ 49 „
„ Hunde .	$6^1/_2$ „ 12 „	7 „ 18 „

Markl

für Meerschweinchen 11 bis 68 (bis 80) Tage.

Meine eigenen Versuche hatten Resultate, die mit diesen in Uebereinstimmung sind.

Es starben:

die Ratten im Allgemeinen nach 9 bis 12, meist nach 9 bis 10 Tagen;
„ Meerschweinchen . . . . „ 14 bis 30 Tagen,
„ Kaninchen . . . . . . „ 24 „ 60 „
„ Hunde . . . . „ 5 und 8 Tagen.

Grössere Thiere lebten im Allgemeinen länger als kleinere derselben Art.

Die Autoren sprechen sich im Allgemeinen über die Ursache der enormen individuellen Schwankungen der Krankheitsdauer nicht aus; nur das wird hier und da angegeben, dass sehr junge Thiere besonders empfänglich sind.

Was die Unterschiede betrifft, die für ein und dieselbe Thierart die Durchschnittszahlen der verschiedenen Autoren zeigen, so hat man diese hin und wieder auf die Natur des Impfstoffes zurückführen wollen. Laveran und Mesnil weisen darauf hin, dass sie mit Material arbeiteten, das schon eine sehr hohe Zahl von Ueberimpfungen erfahren hatte, im Gegensatz etwa zum Material der englischen Autoren, denen wir die ersten Arbeiten verdanken. Koch hat den Gedanken, dass die Passage durch eine neue Thierart die Virulenz für die alte schwächen könne, zum ersten Mal ausgesprochen und zum Zwecke praktischer Verwerthung im Dienste der Rinderzucht experimentell an Rindern geprüft. Seine Versuche waren viel zu spärlich, und ihre Beweiskraft ist dementsprechend meist angefochten worden. In der That müsste nach Koch die Anpassung an einen bestimmten Wirth und die Abschwächung in Bezug



auf den früheren schon nach einer Passage erfolgen, was wenigstens bei den meisten Thierarten sicher nicht der Fall ist. Abgesehen von Laveran und Mesnil hat besonders Schilling die Frage von Neuem aufgeworfen und sehr eingehend erwogen; er glaubt sich Koch anschliessen zu dürfen. Von seinen Angaben ist uns diejenige von besonderem Interesse, nach der das Material des Berliner Institutes eine sehr häufige Passage durch Hunde erfahren hat, ausser durch Hunde hauptsächlich durch Ratten. Denn in unseren Versuchen, die mit diesem Material angestellt sind, erweisen sich die Trypanosomen gegenüber den Ratten und insbesondere gegenüber den Hunden in einer Weise virulent, wie es sonst nicht beobachtet ist (vgl. die obenstehenden Zahlen).

Die entmilzten Thiere ergaben unter Berücksichtigung der eben erwähnten Factoren eine etwas kürzere Lebensdauer, wenigstens bei Ratten (2 Mal 7, 1 Mal 9 Tage) und beim Hund (5 Tage bei einer Körpergrösse, die zwischen der der beiden anderen Hunde lag). Diese Ratten, sowie der Hund waren, wie erwähnt, schon wenige Tage (5 bis 8) nach der Milzexstirpation geimpft worden; die Kaninchen 2 Mal erst nach Monaten, 2 Mal nach 5 Tagen.

Bradford und Plimmer geben an, dass alle ihre entmilzten Thiere rascher eingegangen seien, als die Controlthiere; Laveran und Mesnil dagegen wollen keinen deutlichen Unterschied beobachtet haben.

Was das Auftreten der Parasiten im Blute betrifft, so erfolgte es nur bei Ratten in gesetzmässiger Weise; vielleicht ist annähernd dasselbe bei Hunden von gleicher Grösse und Rasse der Fall; meine Beobachtungen sind nach dieser Seite hin zu spärlich. Vom 3. bis 4. Tage an sind die Trypanosomen im Blute sicher nachzuweisen; sie nehmen an Menge allmählich zu; wenn ihre Zahl sich der der rothen Blutkörperchen genähert hat, tritt der Tod ein.

Bezüglich der Hunde, bei denen die Krankheit auch acut verläuft, können wir nur feststellen, — meine Beobachtungen waren hier aus verschiedenen Gründen lückenhaft — dass die Entwickelung einer nicht unbeträchtlichen Parasitenzahl, die immerhin hinter der der Ratten wohl um das Zehnfache zurückbleibt, möglich ist, wie in einem meiner Fälle der Befund in den Schnitten zeigte. (Aus dem Leichenblut verschwinden sie, wie es scheint, sehr rasch.)

Die Kaninchen können Wochen lang inficirt sein, ohne dass im Blut durch mikroskopische Untersuchung der Nachweis gelingt; infectiös — hierin kann ich die Angabe der Autoren nur bestätigen — ist das Blut immer. Es ist dann im Verlauf der Krankheit hier und da ein vorübergehendes Auftreten mehr weniger reichlicher Parasiten im Blut zu constatiren. Dem Tode scheint ein Anstieg der Parasitenzahl voraufzugehen;

dieser drängt sich aber unter Umständen auf einen Zeitraum von weniger als 2 Tagen zusammen. Auch hier bleibt die terminale Menge der Parasiten weit hinter der der Ratten zurück.

Eigenartig ist der Verlauf bei den Meerschweinchen. Sie werden einerseits Wochen lang scheinbar frei oder fast frei von Parasiten betroffen; andererseits sieht man sie aber auch Wochen lang recht beträchtliche Mengen beherbergen, ohne dass sie davon einen sichtbaren Schaden hätten.

Deutliche Symptome wiesen nur die Kaninchen auf, und zwar dieselben Symptome, die schon vielfach beschrieben sind: Abmagerung, die ungefähr mit der zweiten Hälfte der Krankheitszeit beginnt und manchmal sehr hochgradig wird; ferner Apathie, die Wochen lang andauern kann und nur durch die Nahrungsaufnahme eine Unterbrechung erfährt; Haarausfall um Auge, Ohr und Nase, endlich, besonders wo die Krankheit lange dauert, eine Rhinitis, die allmählich die Athmung sehr erschwert, und eine eitrig-fibrinöse Conjunctivitis, die zur Infiltration der Cornea und zur Vereiterung des Bulbus führen kann; auch ödematöse Schwellung der Genitalien (in meinen Fällen nicht sehr ausgeprägt). Eine schwere Conjunctivitis mit Keratitis sah ich nur bei langer Dauer der Krankheit (von mehreren Monaten) auftreten. Jakimoff hat sie bei einem Kaninchen gesehen, das die Infection nur 11 Tage ertrug.

Die Ratten, denen im Allgemeinen länger dauernde Krankheitszeichen abgesprochen werden, schienen mir doch öfters 12 bis 24 Stunden und mehr vor dem Tode nicht mehr normal, sondern in gedrückter, ängstlicher Stimmung.

Von den Hunden weiss ich nur zu sagen, dass der eine von ihnen noch 12 Stunden vor dem Tode in lebhaftester Bewegung war und sein Futter gierig verzehrte.

Die Frage nach der Todesursache haben schon Bradford u. Plimmer erörtert. Die cerebralen Erscheinungen, wie Koma, Krämpfe und Lähmung von unregelmässigem Charakter, liessen sie ihr Augenmerk auf das Centralnervensystem richten; sie fanden an Zupfpräparaten — Schnittpräparate zeigten sich gegenüber Färbversuchen merkwürdiger Weise refractär — manche Capillaren ganz mit Parasiten vollgestopft (a. a. O. S. 459). Neuerdings hat Bayon auf die eigenthümliche Todesart hingewiesen. Dieser Forscher sagt wörtlich: „Die Todesart erinnerte entschieden an jene, wie wir sie bei Herzkrankheiten, Blutungen in das Centralnervensystem und Embolien kennen.“ In der That sah er (bezw. die Bedienung seiner Thierställe) die Meerschweinchen — auf die allein seine Untersuchungen sich erstreckten — aus scheinbar voller Gesundheit „stehend“ („in piedi“) sterben. Er fahndete dementsprechend auf Embolie und Thrombosen im Gehirn und Lungen, jedoch ohne seine Erwartungen erfüllt zu sehen. Merkwürdiger



Weise ist auch ihm eine Färbung der Parasiten in Schnitten nicht gelungen; ich kann mir das nicht anders erklären, als dass der Autor bloss die sogenannten „Blutfärbungen“, von denen allerdings die Mehrzahl an Schnitten versagt, angewandt hat; denn mir selbst haben die üblichen Schnittfärbungen nie versagt.

Ich selbst hatte von Anfang an auf Grund der Litteraturangaben auch besonders an Lungen und Gehirn gedacht. Ueber das Ergebniss der histologischen Untersuchung giebt Seite 74 Aufschluss. Dass die Thiere in meinen Fällen oftmals sehr rasch aus scheinbarer Gesundheit zum Tode kamen, ist angegeben. In dem einen der beiden Fälle, wo ich das Eintreten des Todes bei Ratten selbst beobachten konnte, starb das Thier nach mehrstündigem Sopor, mit mehreren langgezogenen, lauten Schreien, die unter tiefem Athemholen in Pausen von einigen Secunden auf einander folgten. Ob diesen Erscheinungen Dyspnoë oder eine cerebrale Reizung zu Grunde liegt, wage ich nicht zu entscheiden, immerhin scheint mir unter Rücksicht auf die Schreie das Letztere wahrscheinlicher. Im zweiten Falle war kein Sopor, aber etwa 24 stündige Depression vorausgegangen; das Thier schrie ebenfalls unmittelbar vor dem Ende, zeigte aber ausserdem deutliche Krämpfe, und zwar Strecken des Körpers und Zuckungen der Extremitäten. Hier sprach in der That alles für eine Gehirnreizung. Ein Kaninchen lag längere Zeit (einige Stunden) vor dem Tode, anscheinend bewusstlos, auf der Seite; schmerzhafte Berührung löste kurze, heftige Bewegung des ganzen Körpers aus.

Veränderungen der Parasiten im circulirenden Blut.

Von Veränderungen der Parasiten im circulirenden Blut habe ich — abgesehen natürlich von denen, die mit der Vermehrung durch die sattsam bekannte Längstheilung zusammenhängen — nicht viel bemerkt. Bei einer Ratte, die länger als mehrere gleichzeitig geimpfte, allerdings etwas kleinere Thiere die Parasiten im Blut vermissen liess — vielleicht in Zusammenhang mit ihrer bedeutenderen Körpergrösse — fand ich, in Haufen gelagert, verwaschene Körperchen, um ein Drittel etwa kleiner als ein rothes Blutkörperchen, mit einem dunkleren, ebenfalls verwaschenen Fleck, von der Grösse etwa eines Trypanosomenkernes. Ob es sich um Reste von Parasiten oder um Blutplättchen handelt, konnte ich nicht sicher entscheiden.

Ersteres ist durchaus nicht ohne Weiteres auszuschliessen; wir werden sofort sehen, dass die Parasiten beim Absterben den eben genannten Gebilden durchaus ähnlich werden können. Hier ist der Ort, auf einige Angaben der Litteratur etwas näher einzugehen.



Die Deutung, die **Bradford** und **Plimmer** den hierher gehörenden Formen gegeben haben, darf wohl als hinfällig betrachtet werden. Diese Autoren haben die rundlichen Parasiten, die sie als „amöboïde" bezeichnen, für ein besonderes Glied im Entwickelungscyclus gehalten. Doch fanden sie dieselben nur in Ausstrichen von Organen, auch intracellulär! Entmilzte Thiere allerdings sollen sie auch im Blut gezeigt haben. Bei der Beurtheilung der Organausstriche muss mit postmortalen Veränderungen gerechnet werden, ausserdem aber mit den vitalen, die den Hauptgegenstand dieser Arbeit bilden. Was den Blutbefund entmilzter Thiere betrifft, so sei hier vorgreifend bemerkt, dass nach Entfernung der Milz das Knochenmark eine besonders intensive antiparasitäre Thätigkeit entfaltet, bei der degenerirte Parasiten, sowohl frei, wie in Zellen, in den grossen Kreislauf gelangen können.

Bradford und **Plimmer** haben ausser den „amöboïden" noch plasmodiale Formen als Vermehrungsstadien geschildert; diese sollten durch Verschmelzung von amöboïden entstehen und gesteigerter Neubildung dienen. **Laveran** und **Mesnil** haben schon der Vermuthung Ausdruck verliehen, dass es sich auch hier um Verklumpung degenerirter Parasiten handle. Hiermit haben sie wohl für viele Fälle Recht. Ich glaube aber auf Grund meiner histologischen Befunde, mit **Marchand** und **Ledingham**, dass auch eine Verwechselung mit intracellulären Parasiten untergelaufen ist, dass die Autoren das für die Protoplasmamasse des Plasmodiums hielten, was der Körper eines Phagocyten war. Hierfür spricht, ausser den Abbildungen (Figg. 37 bis 39 und 42 bis 43) die Angabe, dass diese plasmodialen Formen besonders in der Milz vorkommen, die wir als die Hauptstätte der Phagocytose kennen lernen werden. Die Vergrösserung der Milz wird sogar als Ergebniss der Plasmodiumbildung angesehen; dieser Ansicht kann man sich anschliessen, wenn man in dem Plasmodium die Milzphagocyten sehen darf. Dass **Bradford** und **Plimmer** auch Phagocyten als solche erkannten, wurde oben erwähnt. Zur Verwechselung dürften hauptsächlich die grossen Makrophagen Anlass gegeben haben (die Gigantophagocyten französischer Autoren), die wohl auch verschmelzen.[1]

Bradford und **Plimmer's** Angaben haben noch — dies sei kurz hier angefügt — in einer anderen Hinsicht Widerspruch erfahren. Sie glaubten eine Conjugation beobachtet zu haben. Die Bilder, die sie geben, beweisen nun freilich keineswegs, dass es sich dabei nicht um Individuen gehandelt haben könnte, die eben aus einem anderen Individuum durch Längstheilung entstanden sind und nun noch mit den hintersten Enden zusammenhängen.

[1] Vgl. **Cantacuzène**, Resorption des cellules hépatiques. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902. T. XVI. p. 522—532.



Die oben erwähnten (s. Anm. S. 31) zoologischen Untersuchungen von Schaudinn und Prowazek lassen einige Vorsicht in der Frage der Vermehrungsweise geboten erscheinen.

Die neuere Protozoënforschung hat ja in den letzten Jahren schon sehr überraschende Ergebnisse gehabt; sind doch nicht nur Coccidien und Eimerien als Entwickelungsformen eines und desselben Organismus erkannt worden; es hat sich sogar eine weitgehende Analogie im Entwickelungscyclus der Coccidien einerseits, der Malariaparasiten — Plasmodien — die früher toto coelo verschieden erschienen, andererseits herausgestellt. Schaudinn hat in der citirten Arbeit nun auch Brücken zwischen Plasmodium ähnlichen Blutparasiten der Vögel und den Trypanosomen — mit denen nach ihm auch die Spirochaeten im Wesentlichen zusammengehören — geschlagen. Nach diesen neuen Ansichten wäre auch das Trypanosoma nur ein Glied in einer Kette morphologischer Umgestaltungen. Wir können auf alle die Möglichkeiten, die sich hier aufthun, an dieser Stelle nicht näher eingehen. Es sei nur noch erwähnt, dass Prowazek für Herpetomonas, die Trypanosoma sehr ähnlich ist, Differenzirung von Geschlechtsformen, Copulation, verschiedene Arten von Autogamie, besonders aber Bildung von Ruhe- bezw. Dauerstadien, die unseren runden Degenerationsformen morphologisch entsprechen können, sowie Entstehung von mehrkernigen Vermehrungsstadien, wie sie Bradford und Plimmer in den oben kritisirten Plasmodien vor sich zu haben glaubten, beobachtet hat.

Da die Methodik und Technik von Prowazek der der anderen Trypanosomenforscher, die wir oben als Kritiker von Bradford und Plimmer berücksichtigt haben, mindestens ebenbürtig sein dürfte, verdienen diese Angaben Beachtung.

Am Ende seiner Arbeit giebt Prowazek eine kurze Notiz über unser Trypanosoma Brucei, der zu Folge er auch bei diesem Organismus Copulation und Autogamie beobachtet hat. Genauere Berichte bleiben abzuwarten.

Veränderungen der Parasiten nach dem Tode in Blut und Organen.

Sobald der Tod eingetreten, erleiden die Parasiten sehr rasch starke Veränderungen. Sie sind meist der Art, dass sie zur Bildung der rundlichen Formen führen, die oben als den Leishman'schen Körperchen ähnlich erwähnt worden sind. Diese rundlichen Gebilde kommen, wie mir scheint, so zu Stande [ich befinde mich mit dieser Auffassung im Einklang mit Laveran und Mesnil (S. 24 ff.)], dass der amphioxus-



artige Protoplasmakörper gegen das Hinterende hin längs der Geissel sich zusammenzieht; die Geissel bleibt mit der so entstehenden Protoplasmakugel zunächst in Zusammenhang, wird aber später offenbar abgeworfen; hier und da sieht man mit isolirten Geisseln die Geisselwurzel in Verbindung; oder aber es bleibt die Geisselwurzel in der Kugel liegen. Bemerkenswerth ist, dass bei den rundlichen Degenerationsformen, so lange sie die Geissel besitzen, die Beweglichkeit erhalten sein kann; in der grossen Mehrzahl der Fälle sind sie unbeweglich. Andererseits kann die Beweglichkeit verloren gehen, ohne dass eine Veränderung der Form eingetreten ist; die Parasiten erstarren einfach und verlieren dann allmählich den scharfen Umriss, zerbröckeln.

In dem Vorhandensein dieser zwei Arten von Erscheinungen, die dem Tode voraufgehen, könnte man einen Fingerzeig sehen, die ältere Ansicht, die sich bei Kanthack, Durham und Blandford erwogen findet, nicht ganz aus dem Auge zu verlieren, der zu Folge es sich bei diesen runden Formen um Ruhestadien handelte. Wenn auch Versuche ergeben haben, dass es sich hier, bei der Infection mit Trypanosoma Brucei, nicht um Dauerformen handelt, die in den Leichentheilen ihre Infectiosität behalten, was doch bei dem terminalen Auftreten dieser Formen verlangt werden müsste, so könnte doch in der eigenthümlichen Umwandlung ein functionell allerdings erfolgloses Analogon zu einem Vorgang vorliegen, der bei anderen Arten oder Gattungen der Verwandtschaft wirklich zu Bildung von Dauerformen oder anderen Ruhestadien führen könnte.[1]

Eine merkwürdige Beobachtung, die uns weiter beschäftigen wird, ist die, dass die Veränderungen der Parasiten an verschiedenen Stellen des Körpers sehr verschieden rasch eintreten. Am raschesten in Milz, Lymphdrüsen und Knochenmark, dann im Herzblut (wohl dem Blut der grossen Gefässe überhaupt); sehr langsam dagegen in der Leber. Ich selbst habe unveränderte Parasiten in der Milz immer nur in geringer Zahl gesehen, auch wenn es sich um Thiere handelte, die noch keine Stunde todt waren, während ich sie in der Leber derselben Thiere massenhaft und in lebhaftester Bewegung fand, und zwar nicht nur zur selben Zeit, sondern noch, nachdem sie z. B. 16 Stunden in kalter physiologischer Kochsalzlösung gelegen hatten.

Es scheint mir diese Thatsache deshalb so bemerkenswerth, weil sie eine erhebliche Empfindlichkeit der Parasiten gegen chemische Einflüsse darthut; denn nur solche kommen doch wohl in Betracht; chemische Einflüsse freilich des absterbenden Körpers; es dürfte aber der Schluss wenigstens der Prüfung werth sein, dass den chemischen Differenzen, die

[1] Vgl. hierzu den Nachtrag.



die verschiedenen Organe im Tode zeigen, auch irgendwelche vitale chemische Differenzen entsprechen, die unter Umständen als mikrobicide Factoren von Bedeutung sein könnten.

Veränderungen der Organe und Verhältniss der Parasiten zu diesen Veränderungen.

Milz:

1. Bei Ratten: Die normale Rattenmilz ist ziemlich reich an weisser Substanz (Follicularsubstanz, lymphoide Substanz u. s. w.); weisse und rothe Substanz nehmen auf den Schnitten annähernd die gleiche Fläche ein oder es überwiegt die erstere. Eine scharfe Grenze zwischen beiden ist nur selten vorhanden und wird dann — immer nur an einem Bruchtheil der Follikelperipherie — von einem tangential verlaufenden Gefäss oder Bindegewebsstreifen gebildet. In der Regel sind weisse und rothe Substanz nur dadurch von einander unterschieden, dass erstere sehr arm, letztere sehr reich an Gefässen (capillarvenöser Natur) ist, und dass in ersterer die Zellen auf's dichteste gedrängt zusammenliegen, während im Bild der Pulpa nicht nur die Gefässe bedeutende Lücken im Parenchym aussparen, sondern im Pulpagewebe selbst die specifischen Zellen durch rothe Blutkörperchen nicht selten aus einander gedrängt sind. Der Zellcharakter ist weniger entscheidend; wohl liegen im Centrum der weissen Knötchen, in der Nachbarschaft der centralen Arterie, öfters in grösserer Masse Zellen vom sogenannten lymphoiden Typus, die in der Pulpa selten sind; es können aber diese kleinen Zellformen auch fast völlig fehlen und mehr weniger ausschliesslich jene Formen das Feld beherrschen, die als für die Pulpa charakteristisch gelten, die sogenannten Pulpazellen, d. h. mittelgrosse Zellen mit annähernd rundlichem oder ovalem, chromatinreichem Kern und ziemlich reichlichem, meist kräftig färbbarem Protoplasma. Ausser diesen kleinen und mittelgrossen Zellen kommen zumeist in der Pulpa, doch auch in die weisse Substanz eingestreut, grössere Elemente vor, bei denen der Kern ausser durch die Grösse hauptsächlich durch relative Armuth an Chromatin und Hervortreten von ein oder zwei Kernkörperchen, auch durch Neigung zu unregelmässiger Gestaltung ausgezeichnet ist, bei denen ferner das Protoplasma mächtig entwickelt, blass und meist unscharf begrenzt ist und vor Allem häufig gewisse Einschlüsse aufweist, die mehr weniger deutlich als Pulpazellen, weisse und rothe Blutkörperchen (unter ersteren hier die polynucleären verstanden) oder als Kerntrümmer oder Pigmentschollen zu erkennen sind. Diese Phagocyten, dies sei betont, sind in der normalen Rattenmilz nur spärlich; ihr Vorkommen, wie insbesondere der Charakter der vorwiegenden Einschlüsse, variirt nicht



unbedeutend. Auf einen für mich besonders interessanten Fall werde ich zurückkommen.

Auf den Zusammenhang der einzelnen Zellformen, sowie auf ihr Verhältniss zu den Gefässen und zum Stützgerüst einzugehen, verschiebe ich bis nach Erledigung der pathologischen Beschreibung. Hier sei nur kurz bemerkt, dass ich eine Aufstellung verschiedener Zelltypen weder für nöthig, noch zweckmässig halte, da mir eine fortlaufende Reihe von Formen vorzuliegen scheint; die Namen: lymphoide Zellen, Pulpazellen und grosse Phagocyten, in dem Sinne genommen, den ihnen die obige Skizzirung gab, mögen immerhin hier weiter gebraucht werden, da sie, der erste und der letzte, die beiden Enden der Reihe, der zweite aber den Durchschnittstypus der Mittelglieder kurz bezeichnen.

Die pathologischen Veränderungen der Rattenmilz bestehen bei der Trypanosomeninfection nach den Autoren wesentlich in Hyperämie. Nur Marchand hatte einen complicirteren Befund (über unsichere Befunde anderer Autoren an Ausstrichpräparaten vgl. S. 43); er fand (vgl. S. 64 u. f. o.) „in der Umgebung der Follikel sehr dicht gedrängte grosse Zellen . . .; die Pulpa besteht grösstentheils aus grossen, sehr blassen und schlecht abzugrenzenden Zellen, die mit sehr zahlreichen Vacuolen durchsetzt sind. Der Kern dieser Zellen ist gross, oft bläschenförmig, zuweilen unregelmässig geformt. In diesen Zellen sind sehr oft rothe Blutkörperchen oder Fragmente von solchen eingeschlossen. An vielen Stellen erscheinen diese Massen wie zu einer dichten Masse verschmolzen.“ „In den Milzvenen sind die grossen gequollenen vacuolären Zellen ebenfalls vorhanden.“ (Ueber die Einschlüsse Weiteres unten!) Bezüglich des menschlichen Falles, der den Ausgangspunkt ihrer Untersuchungen bildete, melden Marchand und Ledingham (S. 44 oben), „dass die Pulparäume grösstentheils mit rothen Blutkörperchen infiltrirt sind, dass die Follikel an Zahl und Grösse bedeutend abgenommen haben und einer beginnenden hyalinsklerotischen Entartung unterworfen sind. Eine Vermehrung des Bindegewebsapparates der Milz ist nicht vorhanden. Der wichtigste und interessanteste Befund besteht in dem Vorkommen der grossen amöbenartigen Zellen, welche die eigenthümlichen kleinen runden Körnchen einschliessen. Ferner ist ein hochgradiger Kernzerfall in gewissen Zellen der Milzpulpa und in kleinen Nekroseherden, stellenweise weiterer Zerfall der Zellen mit zahlreichen Kernfragmenten zu finden.“

Nach meinen eigenen Beobachtungen ist es in der That weniger der hyperämische Zustand, der bei der Milz der Trypanosomenratten in die Augen fällt, als eine Veränderung hauptsächlich der Milzpulpa, wie sie mit Marchand's Worten eben angedeutet worden ist, und die sich wesentlich als eine Vermehrung des grossen Zelltypus, der Phagocyten,



documentirt. Denn in den Zellformen, die Marchand und Ledingham an der citirten Stelle beschrieben, handelt es sich ja nicht etwa um neue, der normalen Milz fremde Elemente, sondern um die grossen Phagocyten, die wir in der Pulpa, wie auch, wennschon seltener, in der weissen Substanz der normalen Milz getroffen haben. Eine Hyperämie ist, wenn wir unter diesem Ausdruck eine stärkere Füllung der Gefässe verstehen, wohl auch, wennschon nicht durchgehend mit Sicherheit, zu constatiren. Im gefärbten Schnitt wird sie aber dadurch vielfach verdeckt, dass die Lichtung der Gefässe grossentheils von den grossen Zellen und anderen „weissen" Elementen eingenommen wird; so kommt es, dass oft weniger rothe Blutkörperchen zu sehen sind, als in einer normalen Milz.

Was zunächst die gröberen Verhältnisse betrifft, so zeigt sich vor Allem die Pulpa gegenüber der weissen Substanz vergrössert. Am meisten tritt dies an der Peripherie des Organs hervor. Die Follikel sind von der Oberfläche abgedrängt. Die Verschiebung in dem Massenverhältniss scheint aber nicht nur auf Rechnung einer Vergrösserung der Pulpa zu kommen; die Follikel scheinen vielmehr ihrerseits absolut kleiner zu werden; immer ist dies freilich nicht zu constatiren; übrigens schwanken die Verhältnisse in diesem Punkte schon normalerweise ziemlich stark. Es kann in der Annahme einer Verkleinerung der Follikel die Beobachtung bestärken, dass die Grenze zwischen weisser und rother Substanz oft noch weniger scharf als sonst erscheint, so dass man den Eindruck einer Pulpificirung — wenn wir uns so ausdrücken dürfen — der Follikel vom Rande her enthält. Doch müsste die Möglichkeit einer solchen Umwandlung erst mit einer strengen Methodik erwiesen werden. Principielle Bedenken scheinen mir gegen sie nicht vorzuliegen; grundsätzliche Verschiedenheiten im Zellcharakter bestehen nicht; was die beiden Substanzen unterscheidet, sind vielmehr, wie wir sehen, die Gefässverhältnisse; diese kann man sich aber wohl anpassungsfähig denken. Dass Marchand und Ledingham in ihrem menschlichen Falle eine beträchtliche Verkleinerung der Follikel constatirten, darf auch als Argument herangezogen werden. Ein Ueberwuchern der Pulpa kann natürlich auch auf einem anderen, als dem angedeuteten Wege zu Stande kommen; die Pulpa könnte sich nämlich aus sich selbst heraus unter Atrophie — durch Druck oder irgendwie mehr mittelbar — der Follicularsubstanz vermehren. Den Versuch einer sicheren Entscheidung behalten wir uns für später vor. Vorläufig müssen wir die Frage offen lassen.

Wir werden, dies sei gleich hier bemerkt, im Laufe unserer Untersuchung wiederholt an Punkte gelangen, wo sich unsere Aufgabe zu Aufgaben allgemeinerer Natur erweitert; diese alle nun ad hoc lösen zu wollen, musste um so mehr aussichtslos erscheinen, als es sich meist um

Fragen handelt, die schon längst der Gegenstand eifrigster Bearbeitung sind und trotzdem von der Lösung so weit entfernt, wie zuvor, so die letzten Fragen nach der Structur von Milz, Lymphdrüsen und Knochenmark, so die Frage nach dem physiologischen Charakter des Peritonealepithels und andere verwandte. Es konnte nur meine Aufgabe sein, das vorliegende besondere Thema so weit zu fördern, als es der gegenwärtige Stand der Wissenschaft erlaubt.

Das Einzige, was von histologischen Veränderungen sichersteht, und was die makroskopisch zu constatirende Milzvergrösserung mindestens zum Theil — den anderen Theil übernimmt wohl die Hyperämie — erklärt, ist die Vermehrung der grossen Zellen, die oben als Phagocyten bezeichnet und durch grossen, blassen, mehr oder weniger unregelmässigen Kern und reichliches, blasses, unscharf begrenztes Protoplasma mit Einschlüssen genügend charakterisirt sind. Bevor ich auf die besonderen Einschlüsse mich einlasse, die bei Trypanosomenratten sich finden, und damit die Frage nach dem Verhältniss der histologischen Veränderung zur Infection berühre, möge vorgebracht werden, was über die Herkunft dieser Zellen gesagt werden kann.

Ich habe sie schon auf Grund ihrer morphologischen Charaktere mit den grossen Phagocyten identificirt, die ich normalerweise in Pulpa und Follikeln fand.

Hier in den pathologischen Fällen kommen sie vor Allem in der Pulpa vor, in der Regel nicht gleichmässig über sie verstreut, sondern herdweise gehäuft; sie können hier stellenweise mächtige blasse Nester bilden, die, dank der blassen Kernfärbung und dank dem fast völligen Fehlen anderer stärker gefärbter Elemente, bei schwacher Vergrösserung zunächst an Nekroseherde denken lassen; selten und vereinzelt liegen sie in den Follikeln; dagegen finde ich sie, wie schon **Marchand**, auch massenhaft in den Venen; ich habe schon erwähnt, dass sie hier die rothen Blutkörperchen stellenweise ganz verdrängen.

Eine Vermehrung dieser Zellen, ihr Vorkommen auch in den Gefässen ist nun freilich keineswegs für Trypanosomiasis specifisch; sie kommt vor, wo immer ein Reiz auf die Phagocyten wirkt. Gerade das Vorkommen in den Gefässen — ich verstehe unter Gefäss hier wie in der Folge, wenn nicht ausdrücklich etwas Anderes bemerkt ist, die venösen Capillaren der Pulpa — hat Veranlassung gegeben, eine Betheiligung des Gefässendothels bei der Bildung dieser Zellen in Frage zu ziehen. Wir werden beim Studium der Leber sehen, dass aus Endothelzellen thatsächlich Zellen, die morphologisch mit den in Rede stehenden identisch sind, enstehen können.

Da ist nun zunächst zu bemerken, dass, wie auch **Marchand** und **Ledingham** betonen, die Entstehung der grossen Phagocyten in den



Maschen der Pulpa nicht zu bezweifeln ist. Wie schon normaler Weise, findet man alle Uebergänge von Pulpazellen zu grossen Phagocyten. Die Phagocyten bilden sich augenscheinlich aus Pulpazellen. Sie werden dabei so gross, dass sie, nach Schnittbildern zu urtheilen, eine grössere Masche des Pulpareticulums ganz allein einnehmen können. Es scheint bei dieser Vergrösserung diejenige Zelle des betreffenden Pulparaumes, an der die Vergrösserung sich abspielt, nicht nur dadurch den nöthigen Raum zu gewinnen, dass die übrigen Zellen zur Auswanderung in die Gefässe, vielleicht auch in Nachbarräume veranlasst werden — rein mechanisch oder sonstwie, — sondern auch dadurch, dass sie sich ihre Nachbarn einverleiben. Zumeist scheinen ja Elemente das Opfer der Phagocytose zu werden, die aus dem Blut in die Maschen der Pulpa gelangen: polynucleäre Leukocyten und rothe Blutkörperchen, letztere ziemlich häufig, erstere aber auch nicht selten. Man kann an dünnen Schnitten den Durchtritt zu sehen bekommen; immer findet er unter Einschnürung des Zellleibes an der Durchtrittsstelle statt. Die rothen Blutkörperchen trifft man, oft mehrere zusammen, auch frei in den Pulpamaschen, besonders in unmittelbarer Nachbarschaft der Gefässe, so zwar, dass der Pulparaum an der Seite, die dem Gefässe zugekehrt ist, einige rothe Blutkörperchen enthält, die sich in nichts von denen im Innern des Gefässes unterscheiden, dass aber die entgegengesetzte Seite von einem Phagocyten mittlerer Grösse eingenommen wird, der augenscheinlich sich anschickt, mit den Blutkörperchen aufzuräumen, dass heisst eines oder mehrere Blutkörperchen schon theilweise mit seinem Protoplasma umflossen hat. Polynucleäre Leukocyten haben wir in der Milzpulpa (bezw. in den Follikeln) nur ganz ausnahmsweise gefunden. Häufiger, als der Uebertritt von Elementen des Blutes in die Pulpa, ist der umgekehrte Vorgang zu beobachten, und zwar am häufigsten an gewöhnlichen Pulpazellen, seltener an Phagocyten;[1] auch hier findet starke Einschnürung statt, die die mannigfaltigsten Bilder liefert. Immerhin bleibt zu untersuchen, ob die Phagocyten nicht einen doppelten Ursprung haben, einerseits aus der Pulpa, andererseits vom Gefässendothel abstammen.

Doch geben zunächst noch die Zellen der Pulpa zu einigen Bemerkungen Veranlassung. Zwei Fragen principieller Natur werden hier gestreift, die trotz vielen Bemühungen um ihre Aufklärung immer noch Gegenstand des Streites sind: die Frage nach dem Kreislauf der Milz und die nach dem Verhältniss von Pulpazellen und Reticulum.

[1] Ueber die Kriterien, die ein Urtheil über die Richtung der Wanderung ermöglichen, brauche ich mich wohl nicht zu verbreiten.



Wie aus der obigen Darstellung hervorgeht, stehe ich auf dem Boden derjenigen, die den Kreislauf für geschlossen halten. Für mich hat die Milz in ihrem pulpären Theil — was das Verhältniss von Parenchym und Circulationsapparat betrifft — eine Structur, die sich von der anderer Organe nur dadurch unterscheidet, dass sie einen Austausch nicht nur flüssiger bezw. gelöster Stoffe, sondern auch morphologischer Elemente zwischen Blut und Parenchym, — in der einen, wie der anderen Richtung — in besonders hohem Maasse gestattet. Dass die Geschlossenheit des Kreislaufs sich nicht ohne Weiteres jedem Präparat entnehmen lässt, ist allerdings zuzugeben. Wenn wir aber nur dem jedesmaligen Augenschein glauben wollen, müssten wir auch an vielen Stellen das Vorhandensein des Reticulums und anderes mehr bezweifeln. Was man an anderen Organen vor der Entdeckung bestimmter Färbungsmöglichkeiten alles nicht gesehen hat, wird vorsichtig machen. Uebrigens lassen auch an Präparaten, die nach einer der gebräuchlichsten Methoden gefärbt sind, geduldige Ausnützung des Farben- und Structurbildes oft zum Ziel gelangen.

Was nun die andere Frage betrifft, so stehen sich hier bekanntlich folgende Ansichten gegenüber: Nach den Einen hat man in der Milzpulpa zweierlei Bestandtheile — abgesehen von den Gefässen — scharf zu trennen (Analoges gilt für das Lymphdrüsenstroma): erstens das Reticulum, zweitens die Pulpazellen. Das Reticulum setzt sich aus Fasern und Zellen zusammen, in einer Art und Weise, über die allerdings schon wieder Meinungsverschiedenheiten bestehen. In den Maschen des Reticulum liegen, als etwas völlig Fremdes, die Pulpazellen. Saxer hat diese Auffassung für die Lymphdrüsen auf embryologischem Wege durch den Nachweis zu kräftigen gesucht, dass schon das erste Auftreten der Zellen, die den Mascheninhalt zu bilden berufen sind, auf Einwanderung zurückzuführen ist. Dieser Auffassung steht die andere gegenüber, wonach die Pulpazellen (bezw. Lymphocyten) Abkömmlinge fixer Zellen sind, die endothelartig dem zelligfaserigen Reticulum angelagert sind. Bei meinen Untersuchungen habe ich solche fixe, endothelartige Mutterzellen, wie sie die zweite Theorie voraussetzt, nicht gesehen. Die grossen Phagocyten erwecken, so lange sie ihre Masche noch nicht ganz erfüllen, allerdings öfters den Eindruck, als seien sie aus einer wandständigen Zelle hervorgegangen. Dies scheint mir aber auch vom ersten Standpunkt aus ganz verständlich. Sobald eine gewöhnliche, augenscheinlich freiliegende Pulpazelle sich vergrössert, und zwar, wie es angenommen werden muss, unter Herabsetzung der Protoplasmaconsistenz, so wird sie sich zunächst, da sonst der Raum durch andere Zellen beschränkt ist, längs der Wand, der sie anliegt, ausbreiten. Da die Vergrösserung, wie oben gesagt, mindestens



zum Theil unter Aufnahme und Verdauung der Nachbarn zu Stande kommt, so wird das Protoplasma fernerhin hauptsächlich auf der einen Seite, eben, wo vorher die Nachbarzellen lagen, der Kern aber an seiner ursprünglichen Stelle, auf der anderen Seite liegen, wodurch wiederum eine gewisse Aehnlichkeit mit einer angeschwollenen Endothelzelle zu Stande kommt. Sollte ich mich zur fraglichen Anschauungsweise bekennen, so müsste ich den Endothelcharakter schon an kleineren Zellen der Pulpa sehen, wo er nicht schon selbstverständlich ist. Dies ist mir aber bis jetzt nicht gelungen. Ein endgültiges Urtheil möchte ich mir jedoch in dieser Angelegenheit nicht erlauben; der Annahme vollständig freier Zellen scheinen mir doch schwere theoretische Bedenken gegenüber zu stehen. Auch habe ich hin und wieder augenscheinlich phagocytäre Zellen von unverkennbar endothelialem Charakter angetroffen (s. Taf. II, Figg. 17 und 18).

Bei der weitaus grössten Mehrzahl der Phagocyten war aber der endotheliale Charakter nicht nur nicht in die Augen springend, wie man etwa nach den Aussagen von Christophers erwarten könnte — auch nach Angaben von Dürck über die zweifelsohne identischen Phagocyten in Pestorganen, — sondern auch bei gutem Willen nicht zu behaupten.

Wenden wir uns nunmehr der Frage zu, ob die Gefässe der Milz sich an der Erzeugung der Phagocyten betheiligen.

Es kann nicht geleugnet werden, dass man öfters auf Bilder stösst, die diesen Gedanken nahe legen. Genaueres Zusehen zeigt allerdings meist, dass es sich, aller Wahrscheinlichkeit nach, um Täuschung handelt, indem unter der betreffenden Zelle der normale Endothelbelag nachzuweisen ist. Dass die Phagocyten sich der Wand anlagern, wodurch eben der Anschein der endothelialen Natur zu Stande kommt, ist bei der oben besprochenen Beschaffenheit ihres Protoplasmas wohl selbverständlich. Eine Schwellung der Endothelzellen wird auch öfters bei flacher Durchschneidung der Gefässwand vorgetäuscht. Ausnahmsweise begegnet man freilich Bildern, denen gegenüber keine sicheren Einwendungen zu machen sind; es dürfte dies darauf zurückzuführen sein, dass an den betreffenden Stellen der Endothelbelag zwischen Gefässwand und -inhalt nicht nachweisbar ist, wie an zahlreichen unverdächtigen Stellen auch (vgl. unten den Befund bei Meerschweinchen und Kaninchen).

Ein Wort noch über die grossen Zellen der weissen, der Follicularsubstanz. Sie finden sich vor Allem, oft vorherrschend, in der äusseren Zone der Follikel; sie kommen aber auch weiter innen, hier meist einzeln, in zerstreuter Ordnung vor, ja in unmittelbarer Nachbarschaft der Arterie. Durch diese verstreuten grossen, blassen Zellen gewinnt der Follikel, bei schwacher Vergrösserung betrachtet, ein Aussehen, als ob er durchlöchert wäre. Die



grossen Zellen gehen, zahlreichen Uebergangsbildern nach zu schliessen, aus den Follikelzellen hervor, die den Pulpazellen sehr ähnlich und nur selten vom lymphoiden Typus sind. Sie enthalten weisse und rothe Blutkörperchen und Kerntrümmer im Protoplasma. In einem Falle waren die Kerntrümmer besonders reichlich; in der unmittelbaren Nachbarschaft fanden sich oft Capillaren; man erhielt hier den Eindruck, als hätten die grossen Zellen die Aufgabe, das dichte Folliculargewebe als Bahnbrecher für neue Gefässe zu rareficiren.

Die Parasiten in der Milz.

In frischen Abstrichen von der Milz ist mir, wie Martini und Anderen, aufgefallen, dass nur sehr selten intacte Parasiten zu Gesichte kommen. Innerhalb der Gefässe finden sie sich aber zweifellos. Sie können daselbst noch an Schnitten nachgewiesen werden. Aus den Gefässen treten sie offenbar mit den übrigen Bestandtheilen des Blutes in die Maschen der Pulpa über; ich fand hier einmal, in unmittelbarer Nachbarschaft der Venenwand, ein sehr schön erhaltenes Exemplar. Die meisten Parasiten trifft man in den Schnitten — ausserhalb wie innerhalb der Gefässe — nicht mehr normal gestaltet, sondern in der runden Form, die oben beschrieben und in ihrer Bedeutung gewürdigt worden ist. Sie sind öfters zusammengeklumpt, so dass man eine diffuse Protoplasmamasse vor sich hat, in der die Kerne, eventuell auch die Geisselwurzeln sichtbar sind. Diese Klumpen haben, wie schon angedeutet, zu Missdeutungen Anlass gegeben, indem sie für Fortpflanzungsstadien gehalten worden sind. In der Milz bereiten sie neue Schwierigkeiten, wie sofort gezeigt werden soll.

Die runden Formen, von denen übrigens sehr oft nichts als der Kern sichtbar ist, liegen nämlich nicht nur frei in den Gefässen und den Pulparäumen, sondern auch innerhalb von Zellen, und zwar wahrscheinlich ausschliesslich innerhalb der grossen Phagocyten, nur ganz ausnahmsweise glaubte ich einen Parasitenkern in einem der seltenen, polynucleären Leukocyten zu sehen, und zwar nur in solchen, die ihrerseits von Phagocyten aufgenommen waren; ganz sicher bin ich der Deutung in diesen Fällen nicht (eine analoge Beobachtung machte ich auch einmal in der Leber). Die eingeschlossenen Parasiten liegen entweder — dies ist der seltenere Fall — in wohlcharakterisirter runder Form, mit Protoplasmahof, Kern und Geisselwurzel — letztere bei der Färbung mit Hämatoxylin-Eosin freilich nur ausnahmsweise deutlich — in einer mehr weniger weiten Vacuole, so, dass zwischen seiner Peripherie und der Wand der Vacuole ein engerer oder weiterer Raum übrig bleibt. Meist sind nur Kerne sicht-



bar. Es will jedoch auch mir, wie **Marchand**, scheinen, dass hier die Schnittdicke von Bedeutung ist, in dem Sinne, dass an sehr dünnen Schnitten (3 bis 2 μ) die Exemplare mit Protoplasmahof häufiger zu sehen sind. Die Parasiten sind meist in der Mehrzahl vorhanden, besonders in den Pulpaherden, die fast ganz aus Phagocyten bestehen; da, wo die Phagocyten vereinzelt liegen — insbesondere trifft dies auch für die Follicularsubstanz zu —, sind sie dagegen oft nur in der Einzahl zu sehen. Ganz allgemein sind die Parasiten ausserordentlich viel seltener, als in dem menschlichen Fall von **Marchand** und **Ledingham**, und zwar nicht nur, was die Zahl der Parasiten in der einzelnen Zelle betrifft, sondern auch die Masse der parasitenhaltigen Zellen. Die Phagocyten sind schon überhaupt nicht so massenhaft, wie in jenem Fall, indem das Bild der Milz bei den Ratten doch noch mehr dem normalen gleicht. Ferner lassen sehr viele Phagocyten — ja, bei den meisten Thieren die Mehrzahl — die Parasiten vermissen. Oft weisen diese parasitenlosen Zellen Vacuolen auf, hier und da so zahlreich, dass die ganze Zelle in Schaum verwandelt erscheint. Hin und wieder — es ist dies jedoch nicht die Regel — ist in der Vacuole ein dunkles Körperchen von unbestimmtem Charakter sichtbar, das die Entstehung der Vacuole aus einem Verdauungsacte wahrscheinlich macht, dessen Gegenstand vielleicht ein Parasit, vielleicht aber auch eine Körperzelle oder Theile einer solchen gewesen sind. Diese schaumigen Zellen gehen oft aus der unregelmässigen Form in eine annähernd rundliche über.

Während nun in vielen Fällen über die intracelluläre Lage der Parasiten kein Zweifel möglich ist, so wird doch mancherorts die Entscheidung, ob die Parasiten wirklich in den Zellen liegen oder ihnen nur angelagert sind, sehr schwierig oder unmöglich. Es kommt dies daher, dass das Protoplasma der Parasiten, wie der Zellen, denselben hellen Farbenton hat und das eine vom anderen auch sonst nicht zu unterscheiden ist. Die Parasiten schmiegen sich ferner — sei es, dass es sich bloss um passives Angedrücktwerden, sei es, dass es sich um das erste Stadium der Phagocytose handelt — dem weichen Zellkörper so innig an, dass eine Grenze zwischen beiden nicht zu erkennen ist. Auch können die oben erwähnten Verklumpungen der Parasiten von Phagocyten oft nicht mit Sicherheit unterschieden werden. Freilich wird den Verklumpungen der Zellkern fehlen. Aber ein solcher ist auch in zweifellosen Phagocyten nicht immer zu finden; in den Schnitten zunächst deshalb, weil bei der gewaltigen Grösse der Zellen — meist 30 bis 40 μ, aber auch mehr — und der geringen Dicke der Schnitte — letztere beträgt oft nur $^1/_{10}$, ja $^1/_{20}$ der Zellendicke — zahlreiche Flachschnitte entstehen müssen, die den Kern vermissen lassen. Es kommt dazu, dass der Kern der Phagocyten

starke Neigung zur Degeneration zeigt, die in einer vollständigen Auflösung zu enden scheint.

Mit einem besonderen Worte ist noch auf die Kerntrümmer einzugehen. Die Gebilde, die Marchand und Ledingham in ihrem menschlichen Falle so massenhaft in Zellen eingeschlossen fanden und zu trypanosomenähnlichen Parasiten in Beziehung brachten, hatte Marchand früher, wo die Anhaltspunkte zur Herstellung einer solchen Beziehung fehlten, geglaubt am ehesten als Kerntrümmer ansprechen zu müssen. Ich kann melden, dass auch bei Ratten die Kerndegeneration Bilder liefert, die nur sehr schwer von denen zu unterscheiden sind, die durch die Phagocytose der Trypanosomen zu Stande kommen. In einem normalen Falle zumal wurde stellenweise die Aehnlichkeit so gross, dass ich zunächst an einen Irrthum in der Bezeichnung der Präparate dachte. Mit der vollen, runden Form des Parasiten, die ausser dem Kern den Protoplasmahof und die Geisselwurzel besitzen, wird man ja Kerntrümmer nicht verwechseln. Es wurde aber schon gesagt, dass gerade diese Form nicht die gewöhnliche ist, dass man vielmehr meist nur den Kern zu Gesicht bekommt, sei es, dass die anderen Bestandtheile bloss nicht sichtbar, sei es, dass sie der Verdauung erlegen sind. Nun ist freilich der Kern für sich noch durch die Eigenthümlichkeit der Färbung gekennzeichnet, die ihm als „Siegelring“ oder, wie Pestbacillen, polar gefärbt erscheinen lässt. Diese Eigenthümlichkeit tritt aber gerade bei Hämatoxylinfärbung nicht immer zu Tage; es scheint hier einerseits die Stärke der Differenzirung, andererseits auch die Integrität des Kernes von Bedeutung. Ausserdem habe ich ringförmige Färbung auch bei Kerntrümmern gesehen. Zwei Befunde werden die Entscheidung immer ermöglichen: wo es sich bloss um Kerndegeneration handelt, wird man, wenn auch nicht in jeder Zelle, neben den Körnern, die zu Verwechslung Anlass geben können, auch solche finden, die kleiner, und solche, die grösser sind, so dass eine ganze Stufenleiter vom unzweifelhaften Theilstück eines degenerirten Kernes bis zum stäubchenfeinen morphologischen Endproduct der betreffenden Form der Kerndegeneration sich ergiebt. Beim Vergleich mit Thieren, die unter Entwickelung grosser Mengen von Trypanosomen im Blute starben, kommt ausserdem die Untersuchung des Gefässinhaltes in Betracht. Zur Vacuolenbildung kommt es natürlich auch bei der Karyolyse.

Ueber die Frage nach der Art der Aufnahme und nach der Intensität der Zerstörungskraft, die die Phagocyten den Parasiten gegenüber entfalten, wird uns das Studium anderer Organe besseren Aufschluss geben.

Für die Annahme, dass die Milz eine Brutstätte der Parasiten sei, habe ich in meinen Präparaten keinen Anhaltspunkt gefunden. Wo die Parasiten häufig sind, da findet auch eine rege Phagocytose statt. Dass

man die Parasiten vielfach herdweise trifft, — mit ungleicher Vertheilung ist übrigens auch bei Untersuchung des circulirenden Blutes zu rechnen — möchte hauptsächlich mit Unregelmässigkeiten der Circulation zusammenhängen, deren Ursache in der massenhaften Einwanderung von Milzelementen in die Milzgefässe zu suchen wäre. Bei solchen Stockungen könnte es allerdings zu localer Vermehrung der Parasiten kommen; diese wird aber augenscheinlich sofort durch die Phagocytose, vielleicht auch durch chemische Einwirkungen compensirt.

In der Ablehnung der Ansicht, dass die Parasiten in der Milz sich besonders reichlich vermehren, bestärkt mich der erwähnte Befund in frischen Abstrichen, der auffallend wenig lebende Parasiten ergiebt, sowie das Ergebniss unserer Milzexstirpationen, das, zum Mindesten mit grosser Wahrscheinlichkeit, eine Herabsetzung der Lebensdauer bei entmilzten Thieren, jedenfalls keine Verlängerung ergiebt.

Ohne Zweifel findet dagegen in der Milz eine intensive Phagocytose statt.

Milz bei Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden:

Ueber die Milzveränderung bei den übrigen Versuchsthieren ist nicht viel zu sagen. So weit die Milz sich überhaupt verändert, geschieht es in derselben Weise, wie bei den Ratten, das heisst, es tritt eine Vermehrung der grossen Phagocyten ein. Nirgends aber war dies in dem Maasse der Fall, wie dort. Bemerkenswerth ist, dass die bewussten Zellen hier innerhalb der Gefässe relativ häufiger zu sein scheinen, als ausserhalb, in der Pulpa (ausnahmsweise in der Follicularsubstanz). Häufiger stösst man wohl eben deshalb auf Stellen, wo eine Umwandlung des Venenendothels in Phagocyten vorzuliegen scheint. Auch hier enthalten die grossen Zellen die bekannten runden Parasitenreste; doch ist auch dies viel seltener, als bei Ratten, entsprechend der viel geringeren Parasitenzahl im Blut. Besonders bei den Kaninchen fällt ferner eine starke Erweiterung der venösen Capillaren auf, die beim Kaninchen allerdings schon in normalen Verhältnissen besonders deutlich aus der Pulpa sich herausheben.

Vom makroskopischen Befund sei noch hervorgehoben, da die Autoren hier zum Theil negative Resultate verzeichnen, dass die Milzvergrösserung bei Kaninchen und Meerschweinchen deutlich war, beim Kaninchen sogar recht beträchtlich, so dass der Querschnitt das Drei- bis Vierfache des Normalen betrug; erst in einer ganz neuerdings erschienenen Arbeit wird die Milzvergrösserung auch für Meerschweinchen zugegeben: **Markl** hat sie in 84 Procent seiner (ca. 20) Fälle gefunden. Die Milz kann sich beim Meerschweinchen so stark verändern, dass es zur Milzruptur kommt.

Markl berichtet über einen solchen Fall; ich selbst habe ebenfalls einen erlebt, nach einer Krankheitsdauer von 2 $^1/_2$ Monaten; beim Hund war eine Vergösserung nicht festzustellen; freilich war bei den Hunden auch die Krankheitsdauer besonders kurz (5, 5, 8 Tage); immerhin hätte eine hyperämische Schwellung wohl eintreten können; eine solche war vielleicht auch thatsächlich vorhanden; die auffallend starke Musculatur der Hundemilz, die sicher starke Contraction ermöglicht, lässt Vorsicht in der Beurtheilung der Volumverhältnisse geboten erscheinen. Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde ertragen die Infection, wie Eingangs gezeigt, sehr verschieden lange, nur wenige Tage die Hunde und Ratten, Wochen bis Monate die Meerschweinchen und Kaninchen. Diese Verschiedenheit kommt, wie aus Obigem hervorgeht, im histologischen Bilde wenig zum Ausdruck. Veränderungen, die histologisch sich als chronisch documentirten, und wie sie bei zum Mindesten verwandter Aestiologie für den Menschen von Marchand und Ledingham beschrieben wurden, fehlen. Die Hyperämie war am stärksten bei den Kaninchen, die Zellvergrösserung bezw. Phagocytenbildung bei den Ratten.

Da bei den Ratten, wenigstens in meinen Fällen, die Menge der Parasiten weitaus bedeutender war, als bei den übrigen Thieren, kann die Phagocytose vielleicht dem Andrang der Parasiten direct proportional gesetzt werden.

Knochenmark.

Als phagocytäres Organ kommt ferner das Knochenmark in Betracht. Makroskopisch ist kaum etwas Auffallendes zn bemerken.

Bei den kleineren Versuchsthieren, Ratten und Meerschweinchen vor Allem, zeigt das Knochenmark schon normalerweise die Beschaffenheit, die es — in den Röhrenknochen, von denen hier zunächst ausschliesslich die Rede ist — bei erwachsenen grösseren Thieren, wie beim Menschen, nur unter der Einwirkung besonderer Reize, stärkerer Inanspruchnahme, gewinnt: es ist ein rothes Mark. Auch bei den „normalen" Kaninchen, die ich auf das Knochenmark untersuchte, habe ich das Mark immer roth und fast ganz frei von Spongiosabälkchen gefunden. Doch schien mir bei diesen Thieren allerdings, im Falle der Infection, die Intensität der Färbung, sowie die Dichtigkeit des Markes gesteigert. Bei meinen drei Hunden fand ich, in augenscheinlichem Zusammenhang mit dem Alter, das Mark in einem Falle durchweg roth, in einem zweiten theils roth, theils fettig, im dritten endlich fast ganz aus Fettgewebe bestehend. Es sei daran erinnert, dass bei den Hunden die Krankheit den rapidesten Verlauf hatte, und zwar ohne dass ein Auftreten grössere Parasitenmengen festzustellen war (auch nicht in einem Falle, wo die Section sehr bald nach dem



Tode vorgenommen wurde). Das Ausbleiben deutlicher Veränderungen kann also nicht sehr befremden.

Was den mikroskopischen Befund betrifft, so sind — zunächst bei Ratten — die histologischen Veränderungen anderen Organen gegenüber verhältnissmässig gering. Die Gefässe sind prall gefüllt. Die dazwischen liegende Masse des Knochenmarkgewebes zeigt im Allgemeinen keine Abweichung von der Norm; es weist die ununterbrochene Kette von Leukocytenformen auf, die man normalerweise findet, von dem kleinen rundkernigen Lymphocytentypus bis zu der mächtigen Riesenzelle mit dem unregelmässig geformten Kern — letztere bei Ratten allerdings nicht die Grösse und Mannigfaltigkeit der Erscheinung erreichend, wie bei den grösseren Thieren. Nur hier und da, scheinbar ohne Regel, bald mehr gleichmässig über den Schnitt verstreut, in anderen Fällen herdweise gehäuft, kommen Zellen vor, die sonst nicht auffallen, Zellen, die den oben beschriebenen Phagocyten der Milz verglichen werden können, meist allerdings etwas kleiner — etwa von 20 μ Durchmesser — und von schärferem Umriss sind, Zellen mit grossem, etwas unregelmässig gestaltetem, mehr weniger abgeblasstem Kern und reichlichem, mehr minder aufgehelltem Protoplasma. Solche Zellen liegen auch in den Gefässen; im Allgemeinen freilich fehlen sie hier; da, wo sie im Gewebe häufig sind, können sie auch im Blute schaarenweise gefunden werden; im Blut zeigen sie mit Vorliebe rundliche Form, oft stark vacuoläres Protoplasma. Im Gewebe scheinen sie die Stellen zu bevorzugen, wo die Maschen des Knochenmarkes durchblutet sind. Diese Zellen umschliessen, wie auch die Riesenzellen, nicht ganz selten — doch dürfte dies nicht so häufig sein, wie in der Milz —, weisse und rothe Blutkörperchen.

Auch hier finden wir eine besondere

Beziehung der Parasiten zu den histologischen Veränderungen.

Die Parasiten finden sich im Blut in schwankender Zahl; ihre Menge kann sehr gross sein. Zusammen mit rothen Blutkörperchen gelangen sie in die Maschen des Knochenmarksgewebes; hier werden sie von den erwähnten grossen Phagocyten aufgenommen, seltener von Zellen, die in ihrem Typus von den gewöhnlichen „Markzellen“ noch sehr wenig entfernt sind, gegenüber den Phagocyten also sich durch compacteres Protoplasma und mehr rundlich construirten, dunkleren Kern unterscheiden. Auch in den Riesenzellen kamen hier und da, aber sehr selten, Bilder zu Gesicht, die die Vermuthung von Parasitenresten nahelegten; diese Bilder waren aber immer wenig scharf; da man nun gerade in den Riesenzellen sehr mit Kerntrümmern zu rechnen hat, die von verwaschenen Parasiten-



resten nicht sicher zu unterscheiden sind, muss ich mich einer bestimmten Deutung enthalten.

Die eingeschlossenen Parasiten waren meist ein seltener Befund; wiederum sehr im Gegensatz zu dem menschlichen Fall von Marchand und Ledingham, wo das Knochenmark von „körnerreichen" Zellen wimmelte. Nur einmal, bei einer entmilzten Ratte, fand ich sie, allerdings nur herdweise, massenhaft in den Zellen des Gewebes; hier waren auch die Gefässe reich an Phagocyten, die ebenfalls vielfach noch sehr deutliche Parasitenreste enthielten; es ist dies derselbe Fall, in dem wir in den Lungen massenhaften Zellen mit Einschlüssen derselben Natur begegnen werden.

Ob in dieser Steigerung der Knochenmarksphagocytose beim entmilzten Thier ein regelmässiges Verhalten vorliegt, lässt mich die Zahl der Versuche, die hier verwerthet werden können, nicht entscheiden.

Leber.

1. Bei Ratten: Ganz besonders bemerkenswerth sind die Erscheinungen an der Leber, und zwar dem Endothel der Lebencapillaren.

Welch' hohe Bedeutung die Phagocytose des Leberendothels gewinnen kann, haben bei der Injection todter Fremdkörper zahlreiche Autoren, bei bakterieller Infection besonders Werigo in seiner schönen Studie über den experimentellen Milzbrand des Kaninchens festgestellt, wo die antiparasitäre Wirkung der Leber noch höher eingeschätzt wird, als die der Milz. Um eine für Trypanosomiasis specifische Erscheinung handelt es sich also bei den Vorgängen, die ich zu schildern habe, nicht. So hat sie z. B. Marchand neuerdings bei der Pest beschrieben.[1] Ich selbst habe sie gelegentlich in einem Fall von Streptokokkensepsis beobachten können.

Im Allgemeinen wird dieser wichtigen Eigenschaft der Leber allerdings wenig Rechnung getragen.[2]

So finden wir sie auch in den experimentellen Arbeiten über Trypanosomeninfection ausser Acht gelassen.

Marchand und Ledingham dagegen haben ihre Untersuchung auch auf die Leber ausgedehnt. Sie berichten über die betreffenden Verhältnisse

[1] Vortrag in der Medicin. Gesellschaft Leipzig. Referat in *Münchener med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 38.

[2] Die in Phagocytose begriffenen Endothelien sind zuerst von v. Kupffer als besondere Elemente, die zwischen der Capillarwand und den Leberzellen liegen sollten, als „Sternzellen" beschrieben worden. v. Kupffer hat seine ursprüngliche Auffassung später selbst aufgegeben. Die Identificirung der Kupffer'schen Kernzellen und der phagocytären Endothelzellen dürfte heute kaum mehr mit ernstlichem Widerspruch zu rechnen haben.



in ihrem menschlichen Fall (s. S. 44 Mitte): „Es enthalten die Lebercapillaren in ihrem Lumen ausser den rothen Blutkörperchen und Leukocyten sehr zahlreiche körnchenhaltige phagocytäre Zellen von bedeutender Grösse, die denen in der Milz durchaus gleichen. Viele dieser grossen Zellen scheinen in naher Verbindung mit der Capillarwand zu stehen und machen den Eindruck stark geschwollener Endothelzellen. Ausser den Körnchen enthalten sie auch in manchen Fällen theils unveränderte, theils in Zerfall begriffene Leukocyten und rothe Blutkörperchen.“ Seite 47 wird die Herkunft dieser Zellen erörtert; die Autoren sind der Meinung, dass „viele Bilder für eine Betheiligung der Endothelzellen der Pfortadercapillaren bei der Bildung der grossen Zellkörper sprechen“, dass aber „jedenfalls ein grosser Theil (nach Seite 69 der Haupttheil) von der Milz zugeführt worden sei“.

Bei seinen Trypanosomenratten erhob Marchand folgenden Befund (s. S. 65): „Die Leberzellen sind überall gut erhalten, mit kleinen hellen rundlichen Vacuolen durchsetzt, die kleinen Fetttröpfchen entsprechen. Sehr auffallend ist das Vorhandensein sehr zahlreicher grosser Zellen in den Pfortadercapillaren, deren Lumen dadurch fast ganz ausgefüllt wird, so dass die rothen Blutkörperchen dazwischen oft auf einen kleinen Raum beschränkt sind. Die Zellen haben ein sehr zartes, von grossen Vacuolen durchsetztes, vollkommen netzförmiges Protoplasma, welches nur in einzelnen eine etwas dichtere Randzone bildet. Der Kern ist gross, oft unregelmässig gestaltet, bläschenförmig oder gleichmässig dunkel gefärbt. Die Vacuolen enthalten oft rothe Blutkörperchen oder Reste von solchen, ausserdem blasse undeutliche rundliche Körperchen, stellenweise auch Leukocyten; doch war es bisher nicht möglich, in diesen Zellen deutliche Trypanosomenreste zu entdecken. Es scheint, dass diese bereits vollständig zerstört waren. Viele Zellen scheinen in Auflösung begriffen zu sein. Im Ganzen gleichen diese Gebilde den grossen vacuolären Zellen der Milzpulpa. Die Endothelzellen der Pfortadercapillaren sind oft nicht sichtbar, nur stellenweise sind schmale oder etwas angeschwollene Zellen mit dunkel gefärbten Kernen an der Innenfläche der Capillarwand vorhanden.“ Diese Beobachtungen liessen im Wesentlichen die Frage nach der Betheiligung der Leber offen. Um über diese Gewissheit zu erlangen, wurden zwei Wege eingeschlagen.

Erstens wurden Thiere in verschiedenen Stadien der Krankheit getödtet, am 2., 4., 6., 7., 8. Tage. (Auf diese Weise wurde nur an Ratten experimentirt, weil bei diesen allein der annähernd typische Verlauf der Krankheit die Aussicht bot, mit relativ wenig Thieren eine vollständige Reihe der Veränderungen zu erhalten.)



Zweitens aber zog ich als Experimentum crucis die Entfernung der Milz heran. Diese gestattete mir, die Leberveränderung annähernd rein zum Ausdruck zu bringen. Die Brutstätten von Phagocyten, die der Körper ausser der Milz zur Verfügung hat, werden ja allerdings in Folge der Milzextirpation wohl in compensatorisch erhöhtem Maasse ihre Producte weiter an's Blut abgeben; diese, zunächst dem allgemeinen Kreislauf beigemischt, konnten aber nicht annähernd die störende Bedeutung haben wie die Zellen der Milz, die in ungeschwächtem Strome in die Leber fliessen.

Eine der Angaben von Marchand könnte geeignet erscheinen, Zweifel an der autochthonen Phagocytose zu erregen, die Angabe nämlich, dass bei den Ratten Parasiten in den Zellen der Lebercapillaren nicht gefunden wurden. Man könnte dies, wenn man die Phagocyten aus der Milz herleitet, darauf zurückführen, dass die Verdauung in der Zeit, die die Phagocyten zur Wanderung aus den Maschen der Milzpulpa bis in die Pfortadercapillaren brauchen, zu Ende gedeiht. Man kann aber auch annehmen — unter Voraussetzung einer autochthonen Leberphagocytose — dass entweder postmortale Veränderungen in der Leber die Parasiten stärker mitgenommen haben, oder aber, dass — hierbei durfte man sich auf die Erfahrungen von Werigo bei Milzbrand berufen — die Verdauung der aufgenommenen Parasiten in den Leberendothelien besonders energisch vor sich geht.

Meine Erfahrungen sind nun folgende:

Schon der histologische Befund bei Thieren, deren Infection das natürliche Ende erreicht hatte, machte es mir wahrscheinlich, dass das Endothel der Lebercapillaren an der Bildung der Zellen, die im Lumen gefunden werden, doch einen recht beträchtlichen Antheil hat. Die grössere Frische, die mein Material dem von Marchand gegenüber voraus hat, mag dies erklären. Oft sehen die grossen Zellen allerdings denen der Milz sehr ähnlich, ja unterscheiden sich von diesen überhaupt in keiner Weise. Aber es ist klar, dass es sich hier um eine Convergenzerscheinung handeln kann; man wird sich nicht wundern, wenn man Zellen, die functionell das gleiche Ziel haben, auch morphologisch ähnlich oder gleich werden sieht.

Dass Zellen aus der Milz eingeschleppt werden können, soll natürlich nicht geleugnet werden. Man darf aber nicht verkennen, dass nicht jede Zelle, die in einer Lebercapillare „frei“ liegt und den Milzzellen gleicht, auch aus der Milz hergeleitet werden darf. Vollständige Gewissheit hierüber hat mir meine Methodik verschaft. Die Verfolgung der allmählichen Entwickelung der Leberveränderungen, sowie die Verhältnisse bei ent-

milzten Thieren haben Folgendes ergeben. Das erste, was man an der Leber der inficirten Thiere beobachten kann, ist eine Erweiterung der Capillaren; sie wird etwa vom 4. Tage an deutlich. Sie erreicht gegen Ende der Infection, das in meinen Fällen meist am 9. oder 10. Tage eintrat, einen so hohen Grad, dass in einer Capillare drei bis vier rothe Blutkörperchen in querer Richtung neben einander liegen können, und dass die Leberzellbalken, die in einer normalen Leber an Masse bei Weitem überwiegen, auf schmale Züge zwischen den Gefässen zusammengedrängt, ja stellenweise bis auf kaum kenntliche Reste geschwunden erscheinen. Es kann das Gewebe dadurch geradezu cavernomartig werden.

Dieser Gefässerweiterung folgt auf dem Fusse — geht vielleicht auch mit den leisesten Anfängen zusammen oder gar voran — eine Vergrösserung des Capillarendothels. Diese Vergrösserung betrifft das Protoplasma, wie auch den Kern. Der gewöhnliche Kern ist ziemlich schlank, spindelförmig, die grosse Achse der Längsrichtung des Gefässes parallel und in der Grösse etwa dem Durchmesser eines Leberzellkernes gleich, der ganze Kern also beträchtlich kleiner als ein Leberzellkern; die Färbung durch Kernfarbstoffe ist sehr intensiv. Dieser Kern schwillt nun an, hauptsächlich in die Quere, aber auch in die Länge; je grösser er wird, desto mehr nimmt die Intensität seiner Färbung ab; dagegen werden meist ein oder zwei Kernkörperchen sichtbar, die in der Regel ziemlich klein, bedeutend kleiner als der Nucleolus der Leberzellen sind. Das Chromatin ist auf unregelmässig gestaltete und vertheilte, sehr verschieden grosse Körner und Fäden beschränkt, die besonders am Rande gehäuft erscheinen. Wenn die Vergrösserung ihrem Grenzwerth sich nähert, d. h. die Endothelzellkerne die Leberzellkerne an Grösse zu übertreffen beginnen, wird die Gestalt oft unregelmässig, besonders eckig; es kann auch ein Theil der Wandung schwinden; endlich stösst man auf kaum kenntliche Reste.

Das Protoplasma vergrössert sich mit dem Kern; die ganz platte Zelle wird dadurch zunächst zur dicken Spindel; bei dieser ist der Umriss noch scharf. Erst wenn am Kern sich die Umwandlung zur blassen Bläschenform abspielt, wird die Begrenzung gegen das Lumen hin unscharf, die Zelle wird amöboid und beginnt die Elemente des vorbeiströmenden Blutes in sich aufzunehmen. Sie kann dabei den Endothelcharakter bewahren, sofern sie nur auf der Gefässwand mit breiter Basis derselben sitzen bleibt. An Längsschnitten der Gefässe treffe ich meist dieses Verhalten. An Querschnitten kommt es dagegen meist zu einer mehr kugeligen Vorwölbung in das Gefäss hinein; hier kann man sehr leicht zu der Ansicht kommen, es lägen freie Zellen vor. Der Unterschied dürfte darauf beruhen, dass die normale Endothelzelle in der Längsrichtung des Gefässes grösser ist als circulär gemessen; die Volum-



zunahme kann sich in der Längsrichtung mehr vertheilen und so die ursprüngliche Form besser erhalten. Es kann aber auch zweifelsohne zu einer wirklichen Ablösung der vergrösserten Zellen kommen. Von dieser Ablösung kann man alle Grade sehen. Auch vollkommen abgelöste Zellen können im Allgemeinen, so lange sie noch an Ort und Stelle liegen, von zugeschleppten dadurch unterschieden werden, dass sie der nackten Gefässwand angelagert sind; natürlich kann aber auch einmal eine ortsfremde Zelle sich an eine freigewordene Stelle der Gefässwand legen.

Die beschriebenen Veränderungen spielen sich nun keineswegs, zum Mindesten nicht gleichzeitig, an allen Zellen ab; die Mehrzahl, jedenfalls ein grosser Bruchtheil, bleibt mehr weniger unverändert, oder, objectiver ausgedrückt, wird im Präparat in normaler Gestalt getroffen. Ob die Zellen, die beim Tode des Thieres normal aussehen, immer so gewesen sind und nicht etwa an Stelle veränderter und abgestossener sitzen, kann nicht wohl entschieden werden. Dass nicht alle Zellen zugleich sich verändern, ist dagegen den Bildern direct zu entnehmen, war übrigens von vornherein unwahrscheinlich, da eine solche allgemeine Endothelschwellung wohl eine zu starke Behinderung der Circulation zur Folge hätte.

Zu betonen ist nun, dass ein nennenswerther Unterschied im histologischen Bild der Leber normaler und entmilzter Ratten (wie auch Kaninchen und Hunde) nicht nachzuweisen war. —

Es erübrigt, Genaueres über die Phagocytose der vergrösserten Endothelzellen zu berichten.

Gegenstand der Phagocytose sind hier wie in der Milz zunächst rothe und weisse Blutkörperchen, von letzteren vor allem die polynucleären Leukocyten. Sehr hochgradig ist die Phagocytose, absolut genommen, nicht; relativ stark für die Leukocyten. Meist trifft man die aufgenommenen Zellen noch ziemlich wohl erhalten in einer Vacuole an. In der Regel enthält ein Phagocyt nur ein bis zwei Leukocyten, daneben hier und da ein, selten mehrere rothe Blutkörperchen, auch letztere meist noch gut kenntlich; körniges Pigment habe ich nicht gesehen. Manche Phagocyten entbehren der cellulären Einschlüsse völlig. Mit den rothen und weissen Blutkörperchen ist aber die Zahl der Einschlüsse noch nicht erschöpft. Es ergiebt sich vielmehr auch hier eine

Beziehung der Parasiten zu den histologischen Veränderungen:

Der Nachweis einer Phagocytose innerhalb der Leber, den Marchand an seinem mangelhaften Material vergebens zu erbringen versuchte, ist mir allerdings gelungen. Es existiren Bilder, die gar keinen Zweifel bestehen lassen, dass die phagocytären Endothelien auch die Trypanosomen aufnehmen. Aber während in dem menschlichen Fall von Marchand

und Ledingham, wo allerdings die Natur der betreffenden Zellen unbestimmt bleiben musste, intracelluläre Parasiten tausendfach zur Beobachtung kamen, war es ziemlich mühsam, sich von der Einverleibung der Parasiten bei den Ratten zu überzeugen. Dabei ist man auch, wie schon für die Milz angegeben wurde, vom Zufall abhängig. An bestimmten Stellen eines und desselben Präparates kann man plötzlich, was man an anderen viertelstundenlang vergebens suchte, gar nicht selten treffen, oder es gewährt ein Thier bei leichter Mühe, was ein anderes hartnäckig versagt oder doch erst grosser Geduld erschlossen hat.

Wie dies zu erklären sei, darüber bin ich nicht ganz in's Reine gekommen. Die Bildung der Phagocyten ist doch zweifelsohne durch die Circulation der Parasiten angeregt und hat wohl ebenso zweifellos den Zweck, den Fremdling zu beseitigen. Dass die Phagocyten dazu im Stande sind, zeigen die Bilder. Andererseits steht aber die Zahl der in Zellen eingeschlossenen Parasiten in keinem Verhältniss zu der Menge der Parasiten, die im umspülenden Blut sich finden. Zur Erklärung dieses Umstandes könnte man, wie schon kurz bemerkt, versucht sein, sich auf einen besonders raschen Ablauf des Verdauungsvorganges in den Leberendothelien zu berufen, wie ihn Werigo glaubte annehmen zu sollen. Einer rascheren Verdauung würde aber doch wohl eine gesteigerte Aufnahme entsprechen. Man könnte auch daran denken, — diese Gedanken lassen sich auch auf andere Organe anwenden —, dass beim Sterben des Thieres die Aufnahme der Parasiten früher aufhört, als die Verdauung, indem erstere besonders hohe, vitale Eigenschaften, Reizbarkeit und Fähigkeit der Bewegung erfordert; Thiere, die vor dem natürlichen Ende getödtet und deren Organe noch lebend eingelegt wurden, zeigten aber keinen Unterschied; die meisten intracellulären Parasiten fand ich sogar in einem Fall, wo es zum spontanen Tode gekommen war, und der Cadaver mehrere Stunden, allerdings bei kühler Temperatur, gelegen hatte. Auch wäre durch diese Auffassung nicht erklärt, warum in anderen Organen die intracellulären Parasiten doch viel weniger selten sind. Dagegen scheint uns ein anderer Gedanke der Erwägung werth. Schon bei Besprechung der Blutbefunde wurde erwähnt — und bei der Beschreibung der Vorgänge in der Bauchhöhle wird weiter davon die Rede sein —, dass man die Parasiten, wie einen Vogel an der Leimruthe, an grosskernigen Leukocyten verankert sehen kann. Diese Parasiten zeigen noch volle Vitalität und machen die gewaltsamsten Anstrengungen, sich loszureissen. Hier und da gelingt es ihnen auch. Für eine Befreiung müssen die Aussichten da am grössten sein, wo der Parasit ungehindert sich bewegen kann, die Zelle aber, die ihn gefangen hält, festsitzt und den Zerrbewegungen nicht nachgeben kann. Beides ist aber gerade in



den Lebercapillaren der Fall, ja es werden hier die Anstrengungen der Parasiten gegenüber den sesshaften Phagocyten durch den Blutstrom unterstützt. In der Milz — und Analoges gilt für Lymphdrüsen und Knochenmark — sind zwar die Phagocyten zunächst auch sessil, aber die Parasiten, die in ihren Bereich, d. h. in die Maschen der Pulpa u. s. w. gelangt sind, haben ihre Bewegungsfreiheit in den beengten räumlichen Verhältnissen fast gänzlich eingebüsst und werden von keiner Strömung ihres Mediums unterstützt. Diese Auffassung würde auch das abweichende Verhalten, die reichliche Phagocytose, der Leber beim Milzbrand mit seinem unbeweglichen Virus erklären.

Hier schliesst sich die folgende Bemerkung natürlich an. Wir haben schon bei der Beschreibung der Milz hervorgehoben, dass die Parasiten in den Zellen unvergleichlich viel seltener gefunden wurden, als von Marchand und Ledingham beim Menschen. Müsste man annehmen, dass auch in letzterem Falle die Parasiten in Trypanosomengestalt im Blute circulirt hätten, so würde man sich die Differenz auf folgende Weise verständlich machen können. Beim Menschen war die Infection eine sehr chronische gewesen (an erheblichen Krankheitserscheinungen hat der Patient fast 1 Jahr lang gelitten). Die fast täglichen Temperatursteigerungen, die zur Beobachtung kamen, solange die Krankheit uncomplicirt erschien, lassen nach Analogie mit anderen Protozoënkrankheiten auf stossweise Vermehrung des Infectionserregers schliessen. Dass diese Vermehrung immer wieder ausschliesslich durch Phagocytose compensirt worden sei, ist nicht wahrscheinlich; man wird hier wohl an die Mitwirkung einerseits der Temperaturerhöhung selbst (die in diesem Fall allerdings 40° kaum überstieg), andererseits von chemischen Vorgängen denken müssen. Diese könnten die Parasiten, wenn auch nicht tödten, so doch lähmen, und in dieser Weise der Phagocytose auf's Wirksamste vorarbeiten, indem sie die Mikroorganismen gerade derjenigen Fähigkeit berauben, die sie am meisten gegen die Phagocytose schützt, nämlich der Beweglichkeit. Das Serum des Menschen könnte auch schon normaler Weise Eigenschaften besitzen, die für die Erreger der betreffenden Krankheit bis zu einem gewissen Grade deletär sind, wie es gegen das Trypanosoma Brucii vollständige Immunität, bezw. Toxicität besitzt.[1]

Endlich möchte ich bei dieser Gelegenheit die Bedeutung der Leberveränderung unter dem Einfluss von Infectionserregern überhaupt eines Blickes von einem umfassenderen Gesichtspunkt aus würdigen, der vielleicht geeignet ist, das Interesse für diese bisher etwas missachtete Erscheinung zu steigern.

[1] Ueber eine ganz andere Auffassung dieser Verhältnisse vergl. den Nachtrag S. 82 ff.



Dass Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark sich bei Infectionen verändern, sehen wir seit Langem als selbstverständlich an; ja wir rechnen die Veränderungen, die hier einzutreten pflegen, eigentlich zu den physiologischen Aufgaben dieser Organe; nicht die Veränderungen, sondern der auslösende Reiz ist pathologisch. Trotz der antiteleologischen Richtung der gegenwärtigen Naturforschung sieht man in den genannten Organen, insbesondere in den Lymphdrüsen und der Milz, allgemein Bollwerke und Hinterhalte des Organismus gegen fremde Eindringlinge, Einrichtungen, die den Zweck haben, den Körper gegen solche Eindringlinge zu schützen, bezw. diese zu beseitigen. Die Lymphdrüsen bilden hier gewissermaassen die Vorwerke, die das Eindringen in's Innere überhaupt verhüten sollen; in der Milz aber wird vernichtet, was diese Vorwerke passirt oder sonstwie in's Innere gelangt, sowie auch, was, als „Schlacke“ des Lebensprocesses, hierselbst entsteht. Der ganze Bau scheint in der That — für die Lymphdrüsen auch die Lage — einer so gedachten Aufgabe durchaus angepasst. Befremden mag es dagegen auf den ersten Blick, unter diesen Organen, oder ihnen angereiht, die Leber anzutreffen, die eine eigentliche Drüse im modernen Sinne eines epithelialen Secretionsorganes im Gegensatz zu den „Lymphdrüsen“ und der „Blutdrüse“, der Milz, ist.

Man darf aber nicht vergessen, dass die Leber unter allen übrigen echten Drüsen eine ganz besondere Stellung einnimmt, und zwar durch ihre Kreislaufsverhältnisse. Ausser dem Blute, das ihr, wie anderen Drüsen ausschliesslich, auf arteriellem Wege zukommt, erhält sie einen ganz gewaltigen Strom venösen Blutes durch die Pfortader, venösen Blutes von besonderer Beschaffenheit, mit den Producten der intestinalen Verdauung beladen. Die Verdauungsproducte dieses Blutes zu verarbeiten, bezw. zu speichern, wird als eine ihrer vornehmsten Aufgaben angesehen. Die Darmschleimheit, die somit die Hauptquelle des Leberblutes ist, wird aber nicht nur von der Nahrungsflüssigkeit bespült, sondern ist zugleich derjenige Theil der Körperoberfläche, der toxischer und bakterieller Invasion am meisten ausgesetzt ist. Es ist also wohl begreiflich, wenn die Leber, die dieser Invasion, gleich wie der Zufuhr der physiologischen Abgaben des Darmes, in erster Linie ausgesetzt ist, auch die Mittel aufweist, der weiteren Ausbreitung dieser pathologischen Anschwemmungen Einhalt zu thun. Dies Mittel ist aber in der phagocytären Potenz der Endothelzellen gegeben. — Die Leber erhält ferner das Milzblut; auch als Nachfilter der Milzcirculation ist sie in der Lage, die bewusste Fähigkeit wohl zu nützen. Die Leber hat eben nicht nur eine Doppelstellung, als Organ für äussere und innere Secretion; es kommt ihr noch weiter die Stellung einer Blutdrüse im selben Sinne, in dem wir diesen Ausdruck für die Milz gebrauchen, ja, genau genommen sogar noch die



Stellung der Lymphdrüsen zu, insofern die Leber nicht nur, wie die Milz, Blut des arteriellen grossen Kreislaufes erhält, sondern, wie die Lymphdrüsen, durch ihre Säftebahnen (die Pfortader!) — die hier allerdings Blut statt Lymphe führen — mit der Oberfläche des Körpers in unmittelbarer Verbindung steht.

2. Leber bei Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden: Die Leber der Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde stimmt principiell ebenfalls mit der Leber der Ratten überein.

Die einzelnen Thiere derselben Gattung zeigen auch hier nicht unbeträchtliche Schwankungen des Befundes.

Proportional der Krankheitsdauer waren die Veränderungen hier so wenig wie dort; im Gegentheil, sie zeigten sich bei den kurzlebenden Hunden am stärksten. Bei Kaninchen war die Hyperämie sehr deutlich, die Umwandlung der Endothelzellen in Phagocyten nicht sehr häufig, häufiger bei den Meerschweinchen.

Die Leber entmilzter Thiere (1 Hund, 4 Kaninchen) konnte, gleichwie bei Ratten, von der normaler, inficirter Thiere nicht unterschieden werden.

Die Parasitenreste waren in den Phagocyten nur selten nachzuweisen, am ehesten noch beim Hund; hier lagen sie öfter in der Mehrzahl, meist neben Leukocyten in einer Zelle, zuweilen in deutlichen Vacuolen, fast immer ohne Protoplasmahof.

Lymphdrüsen.

1. Bei Ratten: Die Lymphdrüsen sind von doppeltem Interesse, weil für die meisten von ihnen bei unserem gewöhnlichen Infectionsmodus der subcutanen Injection ein zweifacher Weg der Parasitenzufuhr in Betracht kommt: die Zufuhr auf dem Lymphweg von der Infectionsstelle aus, und die Zufuhr auf dem Blutweg nach Eintritt der Allgemeininfection.

In der grossen Mehrzahl der Fälle sind nur Lymphdrüsen untersucht worden, die auch der directen Infection zugänglich waren. Injicirt wurde regelmässig von hinten unter die Haut der rechten Weiche. Am schwersten mussten somit die rechts gelegenen Drüsen der vorderen Bauchwand betroffen werden (die bei diesen Thieren eine ähnliche Stellung einzunehmen scheinen, wie die Inguinaldrüsen beim Menschen), sowie die Drüsen, die innerhalb der Bauchhöhle am Eingange des kleinen Beckens längs der grossen Gefässe liegen; in zweiter Linie kamen in Betracht die rechten Axillar- und die linken Bauchwanddrüsen, und endlich die Drüsen der linken Axilla. Denn ein Ueberfliessen der Injectionsflüssigkeit in das Quellgebiet auch der an zweiter und dritter Stelle genannten Drüsen musste wohl statthaben, sobald diese Flüssigkeit in der beträchtlichen Menge angewandt



wurde, wie es in unseren Versuchen thatsächlich der Fall war, insbesondere bei den Ratten, die meist etwa $^1/_{10}$ ihres Körpergewichtes erhielten.

Die Zweideutigkeit der histologischen Befunde hat mich veranlasst, auch mit einer Versuchsanordnung zu arbeiten, die die hämatogenen Veränderungen rein zur Beobachtung brachte. Ich injicirte intraperitoneal und untersuchte die äusseren Drüsen; bei meinen letzten subcutan injicirten Thieren erreichte ich dasselbe, indem ich die Mesenterialdrüsen in den Bereich der Untersuchung zog, die ich bislang vernachlässigt hatte.

Dass man hierbei den hämatogenen Einfluss ganz rein erhält, dafür besteht allerdings keine volle Gewähr. Ich selbst habe, wie unten gezeigt wird, beobachtet, dass die Parasiten aus den Lungencapillaren in das Lumen der Alveolen übertreten können. Die mikroskopische Untersuchung von Ausstrichen hat anderen Autoren bei der Trypanosomenconjunctivitis ebenfalls einen Austritt aus den Gefässen ergeben. Es ist wohl denkbar, dass ein solcher ganz allgemein oder wenigstens unter besonderen Umständen auch sonst vorkommt. Von solchem hämatogen inficirten Gewebe könnten dann wieder die regionären Lymphdrüsen auf dem Wege der Lymphbahnen die Parasiten zugeführt erhalten. Sichere Anhaltspunkte für eine solche Annahme haben sich nicht ergeben; als solcher könnte nur der Nachweis von Parasiten in den zuführenden Lymphgefässen von Drüsen gelten, die nicht im Bereich der primären Infectionsstelle liegen; diesen zu suchen, gestatteten meine Präparate nicht.

Die makroskopischen Verhältnisse, die zur Beobachtung kamen, sind folgende: Von der Injection war schon nach 2 Tagen keine Spur mehr zu erkennen, höchstens eine ganz leichte Röthung des subcutanen Gewebes. Die zunächst gelegene Drüse an der rechten Bauchwand war regelmässig stark geschwollen, bis fast 1 cm lang und etwa 3 mm dick, während sie normaler Weise, wie auch die übrigen Drüsen, im Fettgewebe nicht unschwer aufzufinden, manchmal, wenigstens makroskopisch, gar nicht sichtbar ist. Stark geschwollen waren auch regelmässig die Drüsen der rechten Axilla; sie konnten die Bauchdrüsen sogar noch übertreffen; meist waren auch, oft beträchtlich, vergrössert die erwähnten retroperitonealen Drüsen. Nur wenig, selten stärker nahmen die links gelegenen Aussendrüsen zu. Nicht selten waren schon an der unaufgeschnittenen ausgeschälten Drüse die Zeichen einer mehr weniger ausgedehnten Durchblutung, besonders an den mächtigen Drüsen der rechten Seite zu sehen.

Die mikroskopische Untersuchung ergab: zunächst — aber sehr ungleichmässig ausgeprägt je nach Versuchsthier und Drüse und selbst innerhalb ein und derselben Drüse — eine starke Erweiterung der Gefässe — Capillaren — der Follicularsubstanz, öfter auch kleinere und ausgedehntere Blutungen in das Gewebe und die Lymphbahnen. Blut



wird hier und da, auch in den Randsinus, in grösserer Menge getroffen, so dass sich die Frage erhebt, ob ein Transport aus der Peripherie in die Follicularsubstanz oder aber aus dieser in die Sinus vorliegt; das Letztere ist mir nach den vorliegenden Bildern das Wahrscheinlichere, schon deshalb, weil in der Follicularsubstanz sich hin und wieder eine Thrombose der Gefässe fand, in der man die Ursache der Blutung sehen kann.

Das eigentliche Lymphgewebe, das hier — bei den Ratten — der deutlichen Trennung in einzelne Follikel entbehrt — wohl in Zusammenhang mit den geringen absoluten Dimensionen — und auch nur wenig scharf in eine Rinden- und Markschicht gesondert ist, zeigt Veränderungen analog denen in der Milz, also vorwiegend Zellvergrösserung. Vielfach ist diese Vergrösserung ziemlich diffus, wenn auch in verschiedenen Zonen verschieden stark; hochgradig ist sie im Falle diffusen Auftretens nicht. Oder aber es bietet sich ein Bild, wie in den Milzfollikeln: innerhalb der unveränderten grossen Masse liegen, meist einzeln, mächtige Zellen mit reichlichem, hellem Protoplasma und grossen, ebenfalls meist hellem Kern, der oft Zeichen der Degeneration aufweist; in diesen Zellen können andere — Leukocyten verschiedener Form, wie auch Erythrocyten — eingeschlossen sein; auch blosse Kerntrümmer verschiedenster Grösse, sowie leere Vacuolen sind zu sehen. Die bisher erwähnten Befunde kann man auch mehr weniger ausgeprägt an „normalen“ Drüsen erheben. Sehr auffallend dagegen sind helle Herde, die fast ganz von Zellen, wie sie eben als vereinzeltes Vorkommniss geschildert wurden, gebildet werden, und wie nach Grösse und Gestalt, so auch nach ihrer Lage sehr verschieden sind. Sie können mehr im Inneren der Follicularsubstanz liegen; öfter dagegen sind sie den Lymphbahnen — Randsinus oder inneren Bahnen — benachbart. Sie gleichen sehr den hellen Herden der Milzpulpa.

Zellen, wie sie sich nach dem eben Gesagten im lymphoiden Gewebe vereinzelt oder herdweise finden, liegen sehr oft, manchmal spärlicher, manchmal aber massenhaft, auch in den Lymphbahnen, peripher, wie central.

Hier erhebt sich nun natürlich die Frage, die mutatis mutandis schon für die Milz gestellt werden musste: stammen diese Zellen aus dem eigentlichen Lymphdrüsengewebe oder aus den Bahnen, oder etwa aus beiden; mit anderen Worten, sind sie Abkömmlinge der Lymphocyten oder der Sinusendothelien? Die Entscheidung ist auch hier keine leichte.

Man stösst hin und wieder auf Stellen, die an eine Betheiligung der Sinusendothelien an der Bildung der fraglichen Elemente, die ich Phagocyten nennen will, nahelegen. Aber auch hier weist eine genauere Betrachtung oft, wenn auch nicht immer, unter dem Phagocyten, der, einer



geschwollenen Endothelzelle ähnlich, der Wandung anliegt, den Endothelbelag nach. Nehmen wir dazu, dass in der Mehrzahl der Fälle — die Ausnahmen sind unter Berücksichtigung des Zelltransportes in den Bahnen verständlich — in der benachbarten Drüsensubstanz dieselben Zellen liegen, dass sie hier einen allmählichen Uebergang zum Zelltypus des umgebenden Gewebes zeigen; berücksichtigt man ferner, dass Zellvergrösserung der ausgeprägtesten Art sich an der Peripherie der Follikelmasse an Stellen findet, wo die Sinus völlig leer und von intactem Endothel ausgekleidet sind, so wird man sich eher der Ansicht zuneigen müssen, dass jedenfalls die Hauptquelle der grossen Phagocyten auch hier das specifische Gewebe ist, und dass mindestens die Mehrzahl der Zellen, die in den Sinus liegen, aus der reticulären Substanz dahin gelangt sind, wie die Pulpazellen der Milz in die Venen, die ja physiologisch, vom gegenwärtigen Gesichtspunkt aus, den Lymphbahnen analog sind, als Zu- und Abflusswege des „Filtrir"-Apparates.

Die grossen Zellen liegen mit Vorliebe in der Nähe von Gefässen (Capillaren) und Blutungen. Ueber das

Verhältniss der Parasiten zu den histologischen Elementen

ist ebenfalls Aehnliches zu berichten, wie für die Milz.

Freie Parasiten kommen — wie in anderen Organen, meist in mehr minder verkümmerter Gestalt — vor Allem in den Gefässen vor, jedoch auch in den Maschen der Follicularsubstanz und den Sinus. Die Gefässe werden von ihnen stellenweise vollständig ausgefüllt, wie es Bradford und Plimmer für die Hirncapillaren angegeben haben; einmal beobachteten wir sogar beginnende Thrombose im Bereich eines solchen Parasitenpfropfes. Ihr Vorkommen an letzteren beiden Orten, den Follikeln und Sinus, dürfte mit den Blutungen zusammenhängen; oft ist dieser Zusammenhang sehr deutlich. Es kommen aber Parasiten auch in der Nachbarschaft bloss erweiterter Gefässe vor, wo keine Blutung nachzuweisen ist. Seltener sind in den Schnitten Parasiten zu sehen, in deren Nähe kein Gefässdurchschnitt sich findet; dies beweist natürlich nicht, dass Gefässe in der Nähe thatsächlich fehlen, da die Schnittfläche selbstverständlich in vielen Fällen zum nächsten Gefässe mehr oder weniger parallel verlaufen muss. In grossen Massen werden die Parasiten nur in den oben beschriebenen Herden grosser blasser Zellen getroffen; gerade hier wird aber, wie an den ähnlichen Stellen in der Milzpulpa, und aus denselben Gründen, die Entscheidung manchmal sehr schwierig, ob die Parasiten frei oder in Zellen liegen. In den Zellen kommen sie ganz zweifellos vor; und zwar in den grossen Phagocyten, die vereinzelt in den Maschen liegen, wie in den erwähnten Ansammlungen; in den vereinzelten Zellen pflegen die Parasiten

nur in geringer Zahl, meist der Einzahl, oft freilich mit Körperzellen zusammen, zu liegen; in den Zellen der blassen Herde können sie zu einem Dutzend und reichlicher sich finden: in beiden Fällen liegen sie nur selten wohl charakterisirt in einer Vacuole, mit Protoplasmahof und Geisselwurzel; meist ist nur der Kern sichtbar.

In den Zellen, die, den Phagocyten des reticulären Gewebes durchaus gleichend, nur — wohl im Zusammenhang mit der freien Lage — meist rundlich geformt, in den Lymphbahnen liegen, kann man auch Parasiten finden; sie sind aber hier nur sehr selten in einer Form zu sehen, die eine Missdeutung mit Sicherheit ausschliesst; allermeist sind sie nur sehr undeutlich, schattenhaft; die Mehrzahl der Zellen weist überhaupt nur leere Vacuolen auf. Auch dies Verhalten entspricht dem der Milz, indem in dieser die Phagocyten wohl ziemlich häufige Einschlüsse zeigen, solange sie in der Pulpa liegen, nur spärliche dagegen, soweit sie in den Gefässen zur Untersuchung kommen. Ich schliesse auch gerade aus diesem Verhalten, dass die parasitenhaltigen Zellen aus dem reticulären Lymphgewebe stammen und erst nach Aufnahme der Parasiten in die Sinus gelangen. Dass die übergewanderten Zellen auch in den Sinus noch Parasiten aufnehmen können, wo solche sich — wie gesagt, wohl in Folge von Blutaustritten — finden, ist wohl möglich; eine Theilnahme der Sinusendothelien ist mir nicht wahrscheinlich geworden, soll aber nicht absolut geleugnet werden.

Von den grossen Phagocyten der Lymphdrüsen ist auch in den neueren Arbeiten über Pest ausführlich die Rede.

Marchand sagt über ihre Herkunft: „sie sind zweifellos Abkömmlinge der Endothelzellen der Lymphgänge und allem Anschein nach auch der Trabekel der Follikel.“

Dürck spricht sich weniger entschieden aus; er meint, es „liege vielleicht die Annahme am nächsten, dass sie (scil. die grossen Phagocyten) Abkömmlinge der sogenannten grossen Lymphocyten darstellen“. Der Standpunkt Dürck's weicht also von dem Marchand's wesentlich ab. Dürck nimmt allerdings neben dieser einen Zellart noch eine andere an. „Sie unterscheidet sich sofort in Configuration und Kernstructur von den eben beschriebenen. Es sind grosse polygonale, öfter noch spindel- und rautenförmige Zellen mit lang ausgezogenen, gegabelten Ausläufern und hellen bläschenförmigen Kernen . . . — die Phagocyten der ersten Art sind blasig, gewöhnlich kugelig, die Kerne dunkelgrau melirt und von ziemlich dichtem Gefüge; sie leiten sich offenbar von den präexistenten endothelialen Belagelementen des Reticulums ab und sind augenscheinlich identisch mit den gleichen oder doch sehr ähnlichen Formen, welche in der Milz vorkommen. Es ist möglich, dass auch diese Zellen phagocytär wirken können; jedenfalls habe ich sie nie pestbacillenhaltig gefunden.“

Diese Beobachtungen gestatten nun eine Vermittelung zwischen der Ansicht von Marchand und Dürck. Marchand scheint allerdings die Hauptmasse der Phagocyten — wie mir scheint, nicht zwingend — von den Sinusendothelien abzuleiten; für den Rest giebt er eine Entstehung aus Zellen des Reticulums zu. Dürck sieht Wucherungsvorgänge am Reticulumendothel. Die grosse Zahl der Phagocyten scheint ihm durch diese nicht erklärbar; für sie Veränderungen am Sinusendothel verantwortlich zu machen, hat er offenbar keinen Anhaltspunkt gefunden; er greift somit auf die Lymphocyten zurück. Darin trifft er sich mit mir. Auch ich habe die (grossen) Lymphocyten als Hauptquelle der Phagocyten hinstellen müssen. Ich habe aber auch Uebergangsformen von fixen Zellen zu Phagocyten gesehen. Sieht man die Lymphocyten ebenfalls für Abkömmlinge des Endothels an, so kann man sich natürlich auch wie Marchand äussern. Ich möchte der obigen Darstellung, die sich mir mehr an die Thatsachen zu halten scheint, vorläufig den Vorzug geben.

2. Bei Hunden, Meerschweinchen, Kaninchen. Principielle Unterschiede sind nicht zu verzeichnen; wohl aber bedeutende graduelle. Bei Hunden sind die Lymphdrüsenveränderungen womöglich noch hochgradiger als bei Ratten. In einem Falle wenigstens, in dem auf sie besonders geachtet wurde, fand sich nicht nur enorme Vergrösserung mit markiger Erweichung und Blutung in's Parenchym — auch hier der Nähe der Injectionsstelle proportional —, sondern in der Nachbarschaft der zunächst betroffenen Drüsen ein nicht unbeträchtliches Oedem.

Mikroskopisch waren die Makrophagen in diesem Falle massenhaft.

Bei Meerschweinchen und Kaninchen waren die Schwellungen nur gering und mehr gleichmässig; nur bei einem früh eingegangenen Meerschweinchen waren die regionären Lymphdrüsen der Injectionsstelle stärker in Mitleidenschaft gezogen.

Lungen.

Die Lungen schienen mir deshalb der Beachtung werth, weil durch sie nicht nur relativ am meisten Parasiten passiren, indem die Lungen in derselben Zeit von derselben Menge Blutes durchströmt werden, die sich im grossen Kreislauf auf den ganzen übrigen Körper vertheilt, sondern weil in sie auch direct der Abfluss jener Organe gelangt, in denen wir eine zum Theil recht beträchtliche Production und Loslösung von grossen Phagocyten beobachten konnten. Man durfte wohl eine Zellenembolie erwarten, von der eine functionelle Bedeutung nicht ausgeschlossen war.

Im Allgemeinen konnte ich in der Lunge nur eine starke Hyperämie constatiren. Nicht ganz selten kommt es aber zu Blutungen und einem Desquamativkatarrh. Die Blutungen können in den Alveolen



eintreten, aber auch in grösseren Bronchien, sofern ihre Schleimhaut an der Hyperämie betheiligt ist.

Ausserdem fiel in einigen Fällen, am stärksten bei jener entmilzten Ratte, deren oben im Abschnitt über das Knochenmark Erwähnung geschah, eine enorme Ansammlung von grossen Zellen in den Capillaren auf. Sie haben das Aussehen der Phagocyten, die wir in Milz, Knochenmark, Lymphdrüsen und Leber getroffen haben; am meisten schienen sie mir den Knochenmarkphagocyten sich anzuschliessen durch ihr ziemlich compactes Protoplasma und ihren verhältnissmässig gut erhaltenen Kern. Sie enthielten sehr häufig andere Körperzellen, besonders polynucleäre Leukocyten. Ihre Zahl war hin und wieder so gross, dass sie die Lichtung des Gefässes ganz erfüllten. Thrombose habe ich nicht gesehen.

Volle Aufmerksamkeit verdient aber auch das Alveolarepithel. Wo es durch den Schnitt flach getroffen wird oder in der Aufsicht zur Beobachtung kommt, sieht es freilich den eben erwähnten intravasculären Zellen, was Charakter des Protoplasmas und Kernes betrifft, oft zum Verwechseln ähnlich; das Aufsuchen des meist mehr eckigen Zellcontours, dem sich der Umriss der Nachbarzellen ebenfalls eckig anschliesst, sowie die Feststellung des Verhältnisses zur Gefässwand durch Einstellung in verschiedenen Ebenen lassen meist eine bestimmte Ansicht gewinnen. (Wie wichtig dies ist, werden wir bald sehen.) Mit grösserer Sicherheit sind die Alveolarepithelien als solche zu erkennen, wo sie mit der Gefässwand quer (oder längs in einer Ebene, die der Achse des Gefässes nahe liegt) getroffen sind. Hier kann man nun feststellen, dass sie in verschiedenem Grade angeschwollen sind. Bei dieser Schwellung machen sie dieselben Veränderungen durch, die wir an den Pulpazellen in der Milz, den Markzellen im Knochenmark, den Lymphocyten in den Lymphdrüsen und den Endothelien in der Leber sich abspielen sahen. Das Protoplasma verliert seine scharfe Begrenzung; gegen das Alveolarlumen zu können sich sogar kleinere und grössere Fortsätze bilden; die Berührung mit der Unterlage lockert sich; es kommt zweifelsohne zur Ablösung. Man findet in den Alveolen stellenweise ziemlich zahlreiche Zellen, die ihre Herkunft aus der Alveolarbekleidung noch mehr oder weniger deutlich erkennen lassen. Daneben kommen ausgewanderte Leukocyten, auch Phagocyten vor, wenn schon beide sehr selten; letztere sind von Alveolarepithelien schwer, unter Umständen überhaupt nicht zu unterscheiden. Ausserdem bin ich an einer Stelle auf mächtige Zellen gestossen, wie sie ähnlich besonders in Milz und Leber begegneten: Zellen mit dem unregelmässigen, nicht sehr dunklen Kern der Phagocyten, rings von einem völlig schaumigen Protoplasma umgeben; die einzelnen Blasen des Schaumes sind in der Mehrzahl klein (etwa 2 μ), z. Th. grösser, bis zu den Dimensionen eines rothen Blutkörperchens. Die Gestalt ist annähernd



rundlich; an der Peripherie ist eine schmale dichtere Protoplasmaschicht zu sehen. Es blieb für mich fraglich, ob diese Elemente auf die Alveolarepithelien zurückzuführen oder aus den Gefässen herzuleiten sind. In den Gefässen habe ich sie nicht gesehen. Eine Veränderung des Capillarendothels wurde nicht nachgewiesen. Auch diese feineren histologischen Veränderungen hat Hamdi — auch Dürck — an Pestmaterial beschrieben; insbesondere auch die letzterwähnten vacuolisirten Zellen sind von den Autoren aufgeführt worden.

Die Parasiten in der Lunge

finden sich meist ausserordentlich massenhaft in den Capillaren. In den grösseren Gefässen ebenso; hat das Blut vor der Fixirung längere Zeit gelegen und ist es dann geronnen, so kann man etwas Aehnliches beobachten, wie es aus Versuchen in vitro bekannt ist: auf einer Seite (der unteren in der Leiche) liegen die rothen Blutkörperchen mit wenig Parasiten gemengt, auf der entgegengesetzten das Plasma; zwischen beiden die Leukocyten; zwischen Leukocyten- und Plasmaschicht aber ein mächtiges Lager von Parasiten.

Mit dem Blut treten die Parasiten auch in die Alveolen und Bronchien. Vor Allem wurden die Parasiten nun aber auch intracellulär gefunden. Besonders bei der mehrfach hervorgehobenen entmilzten Ratte waren sie in den Phagocyten der Lungencapillaren auffallend häufig. Da diese Häufigkeit diejenige bei weitem übertraf, die ich je, auch in diesem Falle, in der Leber beobachten konnte, da sie aber derjenigen ziemlich gleich ist, die ich beim selben Thier, freilich als günstige Ausnahme, im Knochenmark fand, da ferner die Zellform auch derjenigen im Knochenmark, wie schon auseinandergesetzt, am nächsten kommt, glaube ich die Zellen mit den parasitären Einschlüssen auch als Sendlinge des Knochenmarkes ansprechen zu sollen. Die Parasiten sind in diesen Zellen nicht nur, besonders im Verhältniss zu der bescheidenen Grösse der Zellen, ausnahmsweise zahlreich — zu dreien bis vieren im Schnitt — sondern auch sehr deutlich; es mag dies, wenigstens bis zu einem gewissen Grade, mit der grossen Feinheit der Schnitte zusammenhängen; ihre Dicke betrug — bei Lungen ein Ausnahmefall — $2\,^1/_2\ \mu$. Oefter als sonst waren sie vom Zellprotoplasma durch einen hellen Ring, den Raum der Vacuole, getrennt, zeigten ein deutliches Protoplasma und schönen Kern, selten auch eine deutliche Geisselwurzel.

Die Parasiten kommen aber auch in den Alveolarepithelien vor. Bei dieser Behauptung stütze ich mich nicht auf die zweifelhaften Flächenbilder — an denen die Erscheinung allerdings naturgemäss am häufigsten zur Beobachtung kommen muss, auch nicht auf Befunde an

frei im Alveolarlumen liegenden Zellen, da in diesen Fällen, wie gesagt, eine sichere Unterscheidung von Alveolarepithel und Phagocyten anderer Herkunft nicht zu treffen ist. Ich berufe mich vielmehr auf die, allerdings seltenen Bilder von Epithelquerschnitten, die oben discutirt worden sind. Die Fähigkeit zur Phagocytose dürfte übrigens nach den Erfahrungen bei anderen Infectionen, wie auch bei der Stauungslunge u. s. w. nichts Ueberraschendes haben; wir verweisen hier noch einmal auf die Angaben von Hamdi über die Lunge bei Pest, denen zu Folge auch die Pestbacillen massenhaft in Zellen aveolärer Herkunft getroffen werden.

Wichtig war mir diese Entdeckung des Austrittes von Parasiten an die innere Körperoberfläche — weil sie, wie schon früher angedeutet — ein Analogon bildet zu dem Vorgang, den wir als Ursache der Trypanosomenconjunctivitis und -Rhinitis des Kaninchens zu vermuthen haben; da sie ferner vielleicht auch ein Licht wirft auf die pathologischen Veränderungen, die Marchand und Ledingham in ihrem menschlichen Falle im Darm gefunden haben.

Bauchhöhle

(Netz, beim Meerschweinchen).

Zu den phagocytären Organen zählt ferner auch das Netz. Seine Bedeutung ist jedoch wohl nur eine locale; die Möglichkeit, am Kampfe gegen Mikroorganismen theilzunehmen, ist nur bei Infection der Bauchhöhle gegeben.

Unter natürlichen Verhältnissen, um deren Aufklärung auch die experimentelle Forschung sich zunächst bemühen wird, kommt es somit nicht in Betracht. Dagegen hat die intraperitoneale Infection insofern eine ganz hervorragende Bedeutung, als sie gestattet, die Phagocytose unter Bedingungen zu beobachten, wie sie ähnlich günstig sonst nicht zu gewinnen sind.

Man erhält einerseits die Phagocyten fast rein und in grosser Zahl in voller Bewegungsfreiheit; der Mikroorganismus andererseits kann in sicherer Weise in grosser Menge den Phagocyten dargeboten werden.

Die Fähigkeiten der Peritonealphagocyten sind an Ausstrichen wie im hängenden Tropfen schon vielfach studirt. Ihre Herkunft durch histologische Untersuchungen aufzuklären, ist vor Allem Marchand bemüht gewesen. Die Angaben, die über Peritonealphagocytose in der Trypanosomenlitteratur sich finden, sind schon an anderer Stelle (s. S. 33) zur Sprache gekommen. Wir nehmen zu ihnen unten Stellung.

Ich habe mich meinerseits ebenfalls nicht auf das Studium des lebenden Exudats sowie von gefärbten Ausstrichen beschränkt, habe vielmehr den Versuch gemacht, auch nach der Quelle der Veränderungen zu forschen.



Meine Ergebnisse sind folgende:

24 Stunden nach der Infection zeigte das (sehr spärliche) Exsudat, frisch zwischen Deckgläschen und Objectträger ausgebreitet, neben rothen Blutkörperchen und lebhaft beweglichen Parasiten zahlreiche polynucleäre Leukocyten und ausser diesen weniger zahlreiche mononucleäre Zellen von derselben Grösse — oder mässig grösser — wie die polynucleären und von derselben, kreisrunden Gestalt, mit ovalem oder plump hufeisenförmigem Kern; das Protoplasma feinkörnig, hier und da von einem oder mehreren glänzenden Körnchen — bis etwa 2 μ gross — durchsetzt, über deren Natur ich nichts weiter sagen kann.

Diese Zellen waren dadurch bemerkenswerth, dass sich an ihnen nicht selten Parasiten in der typischen Trypanosomengestalt verankert fanden. Die Parasiten waren oft nur in der Einzahl, oft aber auch zu zweit, dritt, ja zu viert an einer Zelle zu sehen. Sie sassen mit dem vorderen oder mit dem Hinterende fest. So viel ich beobachten konnte, wurden sie niemals unter Erhaltung ihrer Gestalt vom Zellleib aufgenommen, wie es Laveran und Mesnil abgebildet haben; ein solches Drinstecken in der Zelle, das aber nur scheinbar ist, habe ich nur, besonders bei rothen Blutkörperchen, an Trockenpräparaten gesehen, bei deren Herstellung ein Druck auf die zelligen Elemente in Frage kam, bezw. sichtlich eingewirkt hatte. Laveran und Mesnil haben den fraglichen Vorgang aber, nach der Textfigur wie nach dem Text zu schliessen, auch am lebenden Material beobachtet. Er wird also wohl vorkommen; immerhin muss er selten sein. Auch Bradford und Plimmer sagen ausdrücklich, dass sie nur die Aufnahme „amöboïder Parasiten“ feststellen konnten; das sind aber, wie auf Seite 44 ausführlich dargelegt wurde, die rundlichen Degenerationsformen, die beim Absterben auftreten.

Wir beobachteten an frischen Präparaten, dass die Parasiten zunächst an den Zellen festsassen in einer Art und Weise, dass man sie als angeklebt bezeichnen muss. Die Zelle zeigt bei genauer Einstellung auf die Peripherie aussen vom feinkörnigen Protoplasma einen hellen, homogenen, lichtbrechenden Hof von kaum 1 μ Breite. An diesem Hof liegt nun die Geissel oder das umgebogene Hinterende angeschmiegt, auf eine mehr oder weniger lange Strecke. Der eigentliche Körper, bei Fixation am Geisselende meist auch noch ein Stück der Geissel, war in der Regel frei und unverändert und in lebhaftester Bewegung; die Bewegung ist oft so gewaltsam, dass sie den Phagocyten von Ort und Stelle zerrt; sie erweckt den Eindruck, als mache das Trypanosoma alle Anstrengung, um loszukommen. Ausser diesen stark beweglichen und wohlerhaltenen Formen giebt es nun aber eine grosse Zahl anderer, die eine ganze Kette bilden



von den beschriebenen bis zu solchen, die als unkenntlicher Klumpen dem Phagocyten angelagert sind.

Wir stellen uns demnach die Phagocytose folgendermaassen vor: Durch Bildung einer klebrigen Aussenschicht erhält der Phagocyt die Möglichkeit, mit dem Gegenstand der Phagocytose vorerst in Berührung und Zusammenhang zu kommen. Ist der Parasit im Banne der Zelle, so macht sich an ihm allmählich eine chemisch-toxische Distanzwirkung geltend: er wird von ausgeschiedenem Gift umspült und gelähmt; nach Verlust der Bewegung fällt er mehr und mehr auf die Zelle; dabei schrumpft er, wie beim Absterben in freiem Zustand, auf ein rundliches Klümpchen zusammen; und nunmehr ist er geeignet, von der Zelle aufgenommen und verdaut zu werden. Die Bilder, die mir Abstriche und Schnitte der oben beschriebenen Organe, wie auch die Präparate vom Netz liefern, die noch zu beschreiben sind, stehen alle mit dieser Auffassung im Einklang. Ein einziges Mal schien mir ein Parasit in einer Vacuole zu liegen (einer Endothelzelle der Rattenleber), der nicht rundlich, sondern lanzettförmig war. Nun, es ist natürlich auch möglich, dass einmal ein Parasit, der nicht in der gewöhnlichen Weise beim Absterben seine Form verändert, sondern annähernd beibehält, wie es ja erwähntermaassen vorkommt, auch in dieser Form aufgenommen wird. Für lebendgefangene Parasiten ist etwas Analoges, atypische Degeneration und Aufnahme bei mehr oder minder erhaltener Form, natürlich auch denkbar. In der Regel aber wird wohl eine Fixirung und nachfolgende Lähmung den Process einleiten.

Nach zwei Mal 24 Stunden herrschen im Exsudat, das noch spärlicher ist, die Mononucleären vor; Blutkörperchen und Parasiten sind viel seltener. Die Erscheinungen der Phagocytose sind dieselben.

Um über die Herkunft der Phagocyten womöglich in's Klare zu kommen, wurden Präparate angefertigt, wie sie Marchand empfohlen hat: excidirte Stückchen des Netzes wurden durch Fixation mit Nadeln auf einem überragenden Kork über ein Deckgläschen ausgebreitet, im ausgebreiteten Zustand fixirt und dann in gewöhnlicher Weise gefärbt und eingeschlossen.

Den normalen Bau des Netzes vom erwachsenen Meerschweinchen macht man sich wohl am einfachsten auf folgende Weise klar: Man denke sich eine doppelte Lage platten Epithels, dazwischen eine dünne Schicht Zwischengewebe; diese Lage werde nun so durchlöchert, dass annähernd so viel erhalten bleibt als ausfällt; und zwar seien die Löcher fast rundlich oder oval, ferner von unregelmässiger Grösse. An den Rändern der Löcher lässt man natürlich die beiden Decklagen sich zusammenschliessen. Die Decklagen bestehen aus grossen, platten Zellen mit grossem, ovalem, blassem Kern, der auch seinerseits ausserordentlich abgeplattet ist, in



vielen Fällen geradezu einer Münze verglichen werden kann; wo er auf dünne Bälkchen zu sitzen kommt, biegt er sich über die Fläche, wie der Sattel auf dem Rücken eines Reitthieres. Zwischen den Decklagen finden sich, wohl in einem homogenen Grundgewebe, Fasern, die durch Säurefuchsin sich roth färben lassen, jedoch zumeist keine Zellen, bezw. Kerne. Zwischen den Fasern laufen Spalträume, die einer besonderen zelligen Auskleidung entbehren, in der Regel einer in einem Bälkchen ziemlich central. Diesen äusserst einfachen Bau, der es keineswegs zu bedeutenden Leistungen bestimmt erscheinen lässt, insbesondere was die Frage der Phagocyten betrifft, zeigt das Netz auf grosse Strecken. Man kann ganze Quadratcentimeter nach anderen Bestandtheilen vergebens durchsuchen. Weiterhin stösst man dann auf kleinere und grössere, in Bögen verlaufende Gefässe, von denen die grösseren von Fettgewebe begleitet sind; an die kleineren Gefässe tritt das Netz unverändert heran.

In meinen Fällen von Trypanosomeninfection war nun das Bild etwas belebter. In den Maschen und über den Bälkchen waren zunächst Phagocyten sichtbar, von ähnlichem Bau, wie die im Exsudat gefundenen. Nur liessen sie hier mannigfache Einschlüsse erkennen, wie in anderen Organen auch: rothe Blutkörperchen in mehr weniger verändertem Zustand und Leukocyten, hauptsächlich von der polynucleären Form (in einem solchen hinwiederum einmal einen Erythrocyten); auch eosinophile Zellen fanden sich eingeschlossen wie frei vor. Vor Allem aber fielen gar nicht seltene und oft recht deutliche Einschlüsse von Parasiten in der bekannten runden Form auf. Ausser den Phagocyten waren zahlreiche freie polynucleäre Leukocyten, selten eosinophile sichtbar. Phagocyten, wie Polynucleäre kommen aber auch innerhalb der Bälkchen zur Beobachtung, sowie in einer Situation und Gestalt, die sie im Ein- oder Austritt in die Bälkchen bezw. aus denselben vermuthen lässt; wir nehmen an, dass es sich um den Eintritt und nicht Austritt handelt, aus Gründen, die sich unten ergeben. In den Spalten sind ferner auch freie Parasiten zu sehen, meist schwer blasig degenerirt; seltener liegen sie auch auf den Bälkchen.

Alle die zuletzt erwähnten Zellen sind nicht gleichmässig über's Netz vertheilt, sondern herdweise, in kleinerer oder grösserer Zahl gehäuft, immer die ein- und die vielkernigen am selben Orte.

Die beschriebenen Leuko- bezw. Phagocyten bilden jedoch nicht die einzige abnorme Erscheinung.

An den Stellen, wo sie zu finden sind, erweisen sich vielmehr auch die Deckzellen verändert. Hier und da, aber sehr selten, sieht man Mitosen, öfter Zeichen der directen Theilung; vor Allem aber eine Schwellung des Zellkörpers; diese ist nicht an allen Elementen eines bestimmten Bezirkes gleich; an manchen vielmehr nur unmerklich; andererseits aber



scheint sie sich derart zu steigern, dass sie zur Bildung von Zellkörpern führt, die den freien Phagocyten sehr ähnlich sind; es scheint auch zur Ablösung solcher stark geschwollenen Elemente zu kommen, wie man aus dem Vorhandensein von Fortsätzen schliessen kann, mit denen sonst völlig freie Zellen an den Bälkchen haften. Freilich wird man mit der Möglichkeit rechnen müssen, dass solche Fortsätze, die wir hier als Zeugen eines ursprünglichen Zusammenhanges in Anspruch nehmen, durch Fibrinfäden vorgetäuscht werden; auch könnte es sich um secundäre Anlagerung von Fortsätzen ursprünglich freier Zellen handeln. Für die Mehrzahl der Fälle scheint mir, vorzüglich in der Art des Ansatzes an Bälkchen und Zelle, doch die Handhabe zu einer Entscheidung geboten; doch sind zu einer endgültigen Stellungnahme die Beobachtungen noch zu spärlich. Die freien Phagocyten sind gegenüber den sesshaften normalen Deckzellen durch einen dunkleren und in der Mehrzahl der Fälle besonders gestalteten Kern charakterisirt; die Gestalt des Kernes ist nämlich nicht oval und — von der Seite gesehen abgeplattet, sondern mehr wurst- oder gurkenförmig, mit geringerer oder stärkerer Krümmung in der Längsrichtung. Es erleiden aber die Deckzellenkerne bei der Schwellung des Zellkörpers Veränderungen, die wohl als Uebergang zur Kernform der freien Zellen aufgefasst werden könnten.

Für Marchand, der diese Verhältnisse wohl am genauesten studirt hat, kommen — wenigstens in der Hauptsache — nicht die Deckzellen als Phagocytenbildner in Betracht, vielmehr Zellen aus der unmittelbaren Nachbarschaft der Gefässe, die von Marchand vorläufig als adventitielle Zellen bezeichnet werden.

Ich habe in der Nachbarschaft der Gefässe in meinen Präparaten keine Anhaltspunkte für eine solche Herleitung gefunden.

Die Phagocyten als Zellen aufzufassen, die nicht da entstanden sind, wo ich sie vor Allem beobachten konnte, nämlich mitten in den gefässlosen Partieen des Netzes, als Zellen vielmehr, die von irgendwoher zugewandert sind, dazu liegt auch für mich ein starker Grund vor: nämlich die Thatsache, dass mit den Phagocyten zusammen immer auch die polynucleären Leukocyten gefunden werden, für die die Annahme einer Ueberwanderung an Ort und Stelle von aussen nicht zu umgehen sein wird. Freilich, zwingend ist der Grund nicht; das mag folgende Ueberlegung zeigen: Die Veränderungen am Netz treten herdweise auf; dies lässt zweierlei Schlüsse zu; entweder, dass der Reiz, der der Veränderung zu Grunde liegt, ebenfalls nur circumscript einwirkt; dies muss man annehmen, wenn man einen Theil der Veränderung dem fixen Gewebe solcher Stellen des Netzes zuschreiben will, die sich anatomisch von anderen Stellen des Netzes in keiner Weise unterscheiden, wie es nach



meiner Meinung wahrscheinlich berechtigt ist. Nun, es ist ja sehr wohl denkbar, dass eine Einwirkung des infectiösen Materials nur beschränkt zu Stande kommt, nämlich da, wo das Netz nicht durch Anliegen an Nachbargebilden vor der Zuwanderung geschützt ist (eine allgemeine Aufhebung dieser Contacte durch reichliches Exsudat findet nicht statt); es wäre dann die spätere Anwesenheit der Polynucleären am selben Orte durch Ueberwanderung aus den nächsten Gefässen, voraussichtlich unter der Leitung chemotaktischer Reize zu erklären; bei dieser Wanderung müssten, wenn man die Wanderzellen aus dem Gefäss gleich an die Oberfläche treten lässt, natürlich auch Contactstrecken überwunden werden; für die wandernden Leukocyten dürfte dies aber als durchaus möglich zugegeben werden; man könnte aber für die Ueberwanderung auch die Saftspalten des Netzes in Anspruch nehmen; Zellen kommen in ihnen häufig vor.

Der zweite Schluss wäre der: der Reiz wirkt ursprünglich allgemein — bei relativ grosser Menge der injicirten Flüssigkeit ist dies allerdings ebenfalls denkbar —, und die Rückwirkung — Aussaat von Zellen — erfolgt ebenfalls allgemein; die beobachtete Localisation ist eine secundäre Erscheinung, die erst bei der Resorption des Exsudates zu Stande kommt und sich durch Wiederherstellung der durch die Flüssigkeitszufuhr gelösten Contacte und Beschränkung des Bauchhöhleninhaltes auf die übrigbleibenden Zwischenräume erklärt.

Auch hier muss ich eine bestimmte Entscheidung weiteren Untersuchungen überlassen. Ich möchte nur noch eine Thatsache anführen, die mir für eine intensive Betheiligung des Deckepithels zu sprechen scheint. An einer Stelle, wo die Ansammlung von Phagocyten, wie die Schwellung der Deckelemente und die vermuthlichen „Uebergangsbilder" ganz besonders stark und ausgedehnt waren, fanden sich kleine Inseln mitten in dem Zellreichthum, wo nur nackte Netzbälkchen zu Tage traten, eine Erscheinung, die ich im Bereich des unveränderten Netzes nie beobachtet habe.

Principielle Bedenken wird man gegen die Annahme phagocytärer Eigenschaften des Deckepithels nicht in's Feld führen können, Angesichts der Thatsachen, die wir am Alveolarepithel theils eben kennen lernten, theils längst schon kennen. Es sei ferner kurz daran erinnert, dass gerade Marchand, wenn er die Bedeutung der Deckzellen in dieser Hinsicht nur gering einschätzt, dabei nur durch seine Beobachtungen, keineswegs durch apriorische Bedenken, wie sie Viele aus der Entwickelungsgeschichte schöpfen, beeinflusst ist; nimmt er doch an, dass diese Zellen sich an organisatorischen Processen, gleich wie Bindegewebszellen, betheiligen, ein Punkt, über den die Acten freilich auch noch nicht geschlossen sind.



Die Hauptergebnisse vorstehender Mittheilung sind folgende:

Zusammenfassung.

Bei weissen Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden führt die Infection mit Trypanosoma Brucei unbedingt zum Tode und zwar nach meinen Versuchen am raschesten, innerhalb weniger Tage, bei Hunden und weissen Ratten, langsamer, in einigen Wochen oder Monaten, bei Meerschweinchen und Kaninchen.

Die Trypanosomen vermehren sich im Körper ihres Wirthes in ziemlich regelmässiger Weise, stetig zunehmend bei weissen Ratten (vielleicht auch den Hunden), unregelmässig, so dass sie nach reichlichem Vorhandensein zeitweilig wieder verschwinden können, bei Meerschweinchen und Kaninchen.

Wodurch der Eintritt des Todes in letzter Linie bedingt wird, ist einstweilen noch zweifelhaft; bei Ratten deuten die Symptome der Agone auf Gehirnreizung, für diese dürfte die Ursache am ersten in Behinderung der Circulation zu suchen sein.

Im circulirenden Blute scheinen die Trypanosomen andere Veränderungen als die zur typischen Längstheilung führenden in der Regel nicht durchzumachen; wohl aber ist dies in bestimmten Organen, in Lymphdrüsen, Milz, Knochenmark und Leber, in geringem Grade auch in den Lungen der Fall.

Diese Veränderungen sind augenscheinlich dieselben, die die Trypanosomen im Leichenblut einzugehen pflegen. Ihr Ergebniss ist die Bildung rundlicher Körperchen, die mit den bekannten Leishman'schen morphologisch identisch sind. Sie gehen jedoch nicht im normalen Blute der unveränderten Organe vor sich, sondern zeigen sich mit bestimmten histologischen Veränderungen verknüpft.

Solche spielen sich in den Lymphdrüsen an den Zellen des lymphoiden Gewebes (nicht der Sinus!) ab, in der Milz hauptsächlich an Pulpa-, weniger an Follikelzellen (nicht in den Pulpagefässen!), im Knochenmark an Knochenmarkzellen, in der Leber an Elementen des Capillarendothels, in der Lunge endlich am Alveolarepithel. In Lymphdrüsen, Milz, Knochenmark scheinen es, in der Regel wenigstens, nicht endotheliale Elemente, sondern freie Zellen — und zwar die grosskernigen, protoplasmatischen Formen — zu sein, die sich verändern.

Die aufgeführten Elemente vergrössern sich an Kern wie Protoplasma und nehmen amöboiden Charakter an. Der Kern degenerirt dabei nicht selten.

Der Zellvergrösserung geht eine starke Hyperämie der Organe vorauf und parallel. In den Lymphdrüsen, soweit sie directer Infection ausgesetzt



sind, kann es auch zu Thrombosen und Blutungen, in der Lunge zu Blutungen und Desquamativkatarrh kommen. Hyperämie und Zellvergrösserung (vielleicht auch mit Zellvermehrung verbunden), äussern sich makroskopisch in Vergrösserung besonders von Milz und Lymphdrüsen (letztere hauptsächlich bei directer Infection) und in Rothwerden des Knochenmarkes.

In den grossen Zellen findet man die veränderten rundlichen Trypanosomenformen, einzeln oder zu mehreren, im Allgemeinen nicht sehr häufig (nicht entfernt so häufig, als die Leishman'schen Körperchen beim Menschen).

Oefter, als wohlerhaltene, runde Formen, findet man Reste von solchen, sowie leere Vacuolen, die aller Wahrscheinlichkeit nach noch längere Zeit die Stätte kennzeichnen, wo ein Parasit zu Grunde gegangen ist.

Da einerseits alle Anhaltspunkte fehlen, diese runden Formen für eine Dauerform der Trypanosomen zu halten, da andererseits durch Injection von Parasiten in die Bauchhöhle leicht zu beweisen ist, dass Zellen vom Typus der in Frage stehenden, d. h. grosse Mononucleäre, thatsächlich die Trypanosomen bei voller Beweglichkeit fangen und sich einverleiben können, wobei die Parasiten fast ausnahmslos die runde Form annehmen, so wird man das Vorhandensein der runden Parasitenform in den Zellen auch der Organe auf Phagocytose zurückführen können.

Es erweisen sich bei der Trypanosomen-Infection dieselben Organe phagocytär, deren phagocytäre Eigenschaften schon das Studium anderer Infectionskrankheiten festgestellt hat (insbesondere von Milzbrand, Typhus, Pest).

Einen Parallelismus zwischen der Dauer des Widerstandes und dem Grad der Phagocytose habe ich nicht gefunden.

Diese Thatsache zusammen mit der anderen — und weiteren ähnlichen —, dass das menschliche Normalserum für das Trypanosoma Brucei stark deletäre Eigenschaften hat, macht mir wahrscheinlich, dass diejenigen Thiere, die der Infection erst spät, und wie man wohl annehmen darf, erst nach wiederholten Angriffen des Virus (vorübergehendes Ansteigen der Parasitenzahl) erliegen, dies nicht bloss phagocytären Eigenthümlichkeiten verdanken.

Nachtrag.

Kurz sei noch auf eine Reihe von Veröffentlichungen hingewiesen, die nach Abschluss des Manuscripts zu meiner Kenntniss gelangten.

Es handelt sich um eine Reihe von Vorträgen über die Leishman'schen Körperchen, die in der Section für Tropenkrankheiten der British Medical Association des letzten Jahres von Leishman, Roger, Donovan,

Bentley, Christophers, Castellani und Philipps gehalten worden sind, und denen sich einige Bemerkungen von Manson, Bruce, Low, Crombie angeschlossen haben.[1]

Aus den Verhandlungen geht, um das Wesentliche herauszuheben, hervor, dass Leishman's Gedanke, wonach seine Körperchen zu den Trypanosomen in naher Beziehung ständen, immer mehr Anerkennung findet, mit der Abweichung freilich, die wir schon bei Marchand fanden, dass man in den Leishman'schen Körperchen weniger Degenerationsformen, als vielmehr ein bestimmtes Stadium eines complicirten Entwickelungscyclus gefunden zu haben glaubt.

Für diese Auffassung tritt zunächst auf Grund von Züchtungsversuchen (im Blut), die eine Entwickelung von typischen Trypanosomen aus den Leishman'schen Körperchen ergeben haben sollen, Roger, dann auf Grund histologischer Studien Christophers ein. Dieser, dessen Angaben hier besonders interessiren, fand die Parasiten niemals frei im Blut (der angebliche Befund Laveran's von intracorpusculären Parasiten wird allgemein auf Missdeutung von Kunstproducten zurückgeführt), vielmehr immer intracellulär und zwar regelmässig in Endothelien (vgl. oben S. 52). Irgendwelche Anzeichen jedoch, die an Phagocytose denken liessen, hat er nicht finden können. Er glaubt demnach, dass es sich um ein Zellschmarotzerthum handelt. S. 656, 1. Spalte, oben, heisst es wörtlich: „Die Endothelzellen stellen sehr wahrscheinlich einen günstigen Nährboden für die Parasiten dar, unbeschadet der Ansicht, dass die Aufnahme der Parasiten zunächst kraft phagocytärer Eigenschaften der Zellen geschah".

Meine eigenen Untersuchungen geben mir keinen Anhaltspunkt, dieser Deutung entgegen zu treten. Die Uebereinstimmung zwischen den histologischen Elementen, in welchen Parasiten überhaupt getroffen werden, bei Menschen mit Leishman'schen Körperchen einerseits, bei Tsetsethieren andererseits ist allerdings die denkbar grösste, ebenso wie diejenige in der Form der intracellulären Parasiten.

Es bleibt aber doch als auffallender Unterschied — darauf habe ich schon im Texte hingewiesen — das massenhafte Vorkommen intacter Körper beim Menschen, ihre augenscheinlich rasche Zerstörung bei den Tsetsethieren; und dieser Unterschied steht der Marchand-Christophers'schen Vermuthung jedenfalls nicht entgegen.

Eine sichere Entscheidung bleibt weiteren Untersuchungen anheimgestellt.

[1] *British med. Journal.* 17. Sept. 1904. Nr. 2281. p. 642.



Litteratur-Verzeichniss.

Es sind hier nur diejenigen Arbeiten über die Trypanosomenfrage aufgeführt, die zu unserem speciellen Thema — „die Histologie der Trypanosomen-Infection“ — in Beziehung stehen. Verzeichnisse, die die Litteratur des ganzen Gebietes umfassen, finden sich in dem Sammelreferat von

Rabinowitsch u. Kempner, Die Trypanosomen in der Menschen- u. Thierpathologie u. s. w. *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. I. Originale. Bd. XXXIV. 1903. S. 804—822.

Ein übersichtliches Verzeichniss hat auch Schilling (s. u. 1904), ferner viele Angaben in Fussnoten, besonders was die histologische Seite der Frage betrifft, Marchand und Ledingham (s. u. 1904).

1899. Kanthack, Durham and Blandford, On Nagana or Tsetse-Fly disease. *Proceed. of the Royal Soc.* 1899. Bd. XLIV. p. 100.

— Rabinowitsch und Kempner, Beitrag zur Kenntniss der Blutparasiten, speciell der Ratten-Trypanosomen. *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXX. S. 251 bis 294.

1901. Bradford and Plimmer, The Trypanosoma Brucei, the organism found in Nagana or Tsetse-Fly disease. *Quart. Journal of micr. science.* Bd. XLV. p. 449—471.

— Laveran et Mesnil, Recherches sur le trypanosome des rats. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1901. T. XV. p. 673—714.

1902. Dieselben, Recherches morphologiques et expérimentales sur le trypanosome du Nagana ou maladie de la mouche tse-tse. *Ebenda.* 1902. T. XVI. p. 1—55.

— Dieselben, Recherches sur le traitement et la prévention du Nagana. *Ebenda.* 1902. T. XVI. p. 785—817.

1903. Martini, Ueber die Entwickelung der Tsetseparasiten in Säugethieren. *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLII. S. 341—348.

— Leishman, On the possibility of the occurmec of trypanosomiasis in India. *Brit. med. Journ.* 1903 (30. Mai). p. 1252.

1904. Marchand u. Ledingham, Ueber Infection mit Leishman'schen Körperchen (Kala-Azar?) und ihr Verhältniss zur Trypanosomenkrankheit. *Diese Zeitschrift.* 1904. Bd. XLVII. S. 1—40.

— Schilling, Ueber die Tsetsekrankheit oder Nagana. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1904. Bd. XXI. S. 476—536. (Litteratur 81 Nummern.)

— Markl, Beitrag zur Kenntniss der Nagana-Infection bei Meerschweinchen. *Centralblatt für Bakteriologie.* I. Orig. 1904 (12. Dec.). Bd. XXXVII. S. 530.

— Jakimoff, Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas. *Ebenda.* I. Orig. 1904 (30. Dec.). Bd. XXXVII. S. 668—678.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I u. II.)

(Alle Bilder sind bei 960facher Vergrösserung gezeichnet, ausgenommen das letzte, das einer Vergrösserung von etwa 600 entspricht.)

Figg. 1—15. Bilder aus der Leber:

Figg. 1—9 und 14 Durchschnitte durch Capillaren der Rattenleber; zeigen die Umwandlung der Endothelzellen in Phagocyten, und zwar: Figg. 1—4, sowie 8 u. 9 auf Längs- und Schrägschnitten, Figg. 5—7 und 14 auf Querschnitten. Fig. 9 zeigt das Fehlen des normalen Endothelbelages an Stellen, wo die grossen Phagocyten liegen. Figg. 10—13 und 15 einzelne Zellen aus Lebercapillaren von phagocytärem Charakter, theils noch deutlich endothelial (Figg. 10, 13 und 15), theils von indifferenter Gestalt (Figg. 11 und 12). Figg. 11—13 von gewöhnlichen Ratten, Fig. 10 von entmilzter Ratte, Fig. 15 von entmilztem Hund. Ueberall reichliches Protoplasma, grosser unregelmässiger, nicht sehr dunkler Kern, eingeschlossene rothe (Fig. 13, neben dem Kern), weisse polynucleäre (Figg. 13 u. 15) und mononucleäre (Fig. 15) Blutkörperchen und Parasiten, letztere auf Fig. 11 noch mit Andeutung der ursprünglichen Gestalt (nur ganz ausnahmsweise vorkommend), auf Fig. 15 in der Gestalt eines Leishman'schen Körperchens (nur die Geisselwurzel ist nicht sichtbar), sonst als nackte Kerne oder Reste von solchen. (Kerne und Kernreste auch auf Figg. 2, 5, 8, 9, 14.)

Figg. 16—23 und 35. Bilder aus der Milz:

Figg. 16—18. Grosse Phagocyten in situ, in 17 und 18 von stark endothelialem Charakter (selten!); 16 aus Follikel (Randzone), 17 und 18 aus Pulpa. Figg. 19—23. Einzelne Milzelemente phagocytärer Natur: 19—21 aus der Rattenmilz (Pulpa und Follikel), 22 aus einer Milzvene des Meerschweinchens, 23 aus einer Milzvene des Kaninchens. Alle diese Zellen enthalten, z. Th. neben rothen (Fig. 19*r*) und weissen Blutkörperchen (bezw. Milzzellen) (Figg. 19, 22, 23) deutliche Parasitenreste, fast ausnahmslos mit Protoplasma, in der Gestalt der Leishman'schen Körperchen (Figg. 19, 20, 21, 23); nur ausser in Fig. 21 (Parasit links, ohne Geisselwurzel); in Fig. 23 bloss ein „Schatten" eines Parasiten. In Fig. 22 erscheint ein Parasit bei fast vollständig erhaltener Körperform eingeschlossen, ein ganz vereinzeltes Vorkommniss. Fig. 35 aus einem Milzabstrich: Zelle, die im Begriff ist, einen Parasit aufzunehmen.



Figg. 24—27 und 34. Bilder aus der Lunge einer entmilzten Ratte:

Figg. 24 und 25. Zellen des Alveolarepithels (links Alveole, rechts Capillare) angeschwollen, mit augenscheinlich amöboidem Protoplasma, mit Parasitenresten (Kernen!) im Innern. Fig. 26. Stück der Lunge: oben Vene (*V*); links und in der Mitte abwärts ziehend Capillaren in der Alveolarwand; eine Capillarschlinge auch oben rechts in der Venenwand, enthält einen Parasiten (*K*); *A* = Alveolarlumen. Das Alveolarepithel fehlt grossen Theils; in dem Alveolarlumen sind dagegen grosse rundliche Zellen mit grobschaumigem Protoplasma sichtbar, deren Kern, soweit vorhanden, mit dem Kern der Alveolarepithelien übereinstimmt. Im Protoplasma, besonders links, dunkle Körperchen, die vielleicht als Parasitenreste anzusprechen. Diese Zellen sind wahrscheinlich vom Alveolarepithel herzuleiten. Fig. 27 (auch 34). Zellen aus den Lungencapillaren mit zahlreichen, z. Th. sehr deutlichen Parasitenresten, oft in wohlausgeprägten Vacuolen liegend. Wahrscheinliche Herkunft der Zellen das Knochenmark.

Figg. 28—30. Bilder aus Lymphdrüsen (der Ratte), und zwar freie Zellen aus einer centralen Lymphspalte (eingeschleppt aus der lymphoiden Substanz!) darstellend:

Neben rothen und weissen Blutkörperchen Parasitenreste, z. Th. mit sehr deutlichem Protoplasma; in Fig. 28 die ursprüngliche Form des Parasiten (ausnahmsweise!) noch angedeutet; im Protoplasma des Parasiten eine Vacuole sichtbar (dies auch bei einem der Parasiten in Fig. 29 der Fall).

Figg. 31—33. Bilder aus der Bauchhöhle, bei intraperitonealer Injection aufgetreten (innerhalb der ersten 2 Tage):

Fig. 31. Phagocyt; scheint sich aus dem Peritonealepithel zu entwickeln, enthält einen polynucleären Leukocyten und zwei Restkörper von Parasiten, links einen deutlichen mit Kern und Protoplasma. Der Zelle kleben links die Schatten einiger rother Blutkörperchen an. Fig. 32. Freier Phagocyt, enthält zwei polynucleäre Leukocyten, von denen der eine wiederum ein rothes Blutkörperchen (Ausnahmefall!) eingeschlossen hat (oben!); rechts vermuthlich ein Parasitenrest. Fig. 33. Phagocyt, einem Netzbälkchen lose aufsitzend, wahrscheinlich vom Deckepithel stammend. In ihm wenig deutliche Parasitenreste.

Figg. 34—36. Bilder zur Illustration der Phagocytose:

Fig. 34. Zelle aus einer Lungencapillare (Schnitt!). Fig. 35. Zelle aus einem Milzabstrich. Fig. 36. Frisches Präparat vom Peritonealexsudat (bei etwa 600facher Vergrösserung).



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

Beitrag zur diagnostischen Verwerthbarkeit der Negri'schen Körperchen.

Von

Dr. **Bohne,**
Assistenten am Institut.

(Hierzu Taf. III.)

Die Aufgabe, sich bei der Stellung der Lyssadiagnose von der biologischen Probe unabhängig zu machen, hat seit langer Zeit das Interesse vieler Forscher beschäftigt. Ist doch diese Frage nicht nur für die Wissenschaft, sondern hauptsächlich für die Praxis von grosser Wichtigkeit. Auf zwei Wegen suchte man der Lösung dieser Frage näher zu kommen, einmal durch die bakteriologische, sodann durch die pathologisch-anatomische Untersuchung. Alle Versuche, den Erreger der Wuthkrankheit zu entdecken, schlugen völlig fehl. Weder der Bacillus Bruschettini's (1) noch der Blastomycet Memmo's (2) vermochten einer nachprüfenden Kritik Marx' (3) Stand zu halten. Auch die von Grigoriew (4) und Guanieri (5) beschriebenen und für Protozoën erklärten Gebilde haben sich allgemeine Anerkennung nicht verschaffen können. Glücklicher waren diejenigen, die auf dem Wege der histologischen Untersuchung die Aufgabe zu lösen suchten. Ihre Zahl ist eine sehr grosse. Ich erwähne nur die Arbeiten von Babes (6), van Gehuchten und Nélis (7), Ramón y Cajal (8), Golgi (9), Manonélian (10), Bosc (11), Germano u. Capobianco (12), Benedikt (13), Ferré und Thézé (14).

So beschreibt Babes als Zeichen der Lyssa vacuoläre Degeneration, Verschwinden der chromatischen Elemente, Verlust der Fortsätze, fort-



schreitende Veränderung des Kernes bis zum Verschwinden desselben. Erweiterung des pericellulären Raumes, Einwanderung in diesen sowohl wie in die Nervenzellen von embryonären Gebilden und zugleich von kleinen, theilweise hyalinen, bräunlichen, von einer weissen Zone umgebenen Körperchen. Gewisse Zellen sind von einer breiten Zone embryonärer Zellen umgeben und bilden so die bekannten Babes'schen „Wuthknötchen".

Die Gefässe sind zuweilen erweitert und durch Thromben verstopft, die aus Leukocyten und Gebilden von der Grösse dieser bestehen. Van Gehuchten und Nélis fanden in den peripherischen, cerebrospinalen und sympathischen Nervenganglien eine starke Vermehrung der Zellen der endothelialen Kapsel, wodurch Nervenzellen zerstört und durch Anhäufungen von runden, kleinen Zellen ersetzt sind, die mehr oder weniger scharf von dem umliegenden Gewebe getrennt sind und Zellenknötchen bilden. Golgi beschreibt eine Reihe von Veränderungen, die zusammen das Bild der Encephalo-myelitis parenchymatosa ergeben. Wenn nun auch über das Vorkommen aller dieser beschriebenen Veränderungen Zweifel nicht mehr bestehen, so kann man dasselbe nicht von ihrer Specifität behaupten. Vielmehr haben andere Autoren [Liénaux (15), Bosc] dieselben und ähnliche Befunde bei anderen Krankheiten machen können. So standen die Dinge, als Negri (16) 1903 der Società Medico-Chirurgica zu Pavia Mittheilung machte von dem Ergebniss seiner Untersuchungen des Nervensystems lyssakranker Hunde. Er hatte nämlich in verschiedenen Theilen des Gehirnes, vor Allem aber im Ammonshorn bei wuthkranken Menschen und Thieren regelmässig eigenartige Gebilde gefunden, die sich bei keiner anderen Erkrankung nachweisen liessen. Es waren meist runde oder ovale, intracellulär liegende Körperchen von verschiedener Grösse. Ihr Durchmesser schwankte zwischen 1 und 27 μ. Die grossen Formen zeigten eine mehr elliptische oder birnförmige Gestalt. Im Inneren dieser Körperchen liess sich deutlich eine wabenartige Structur nachweisen. Die Grösse dieser Einschlüsse war verschieden. In manchen Fällen waren die vacuolenartigen Gebilde von derselben Grösse, noch häufiger aber konnte man ein bis zwei grössere von einem Kranze kleinerer umgeben sehen. Das Ganze umgab eine deutliche Membran. Was nun die Vertheilung dieser Körperchen betrifft, so waren sie, wie schon erwähnt, vornehmlich im Ammonshorn zu finden, ferner wenn auch weniger zahlreich in den Purkinje'schen Zellen des Kleinhirnes, in der Rinde, in den Nervenzellen der Brückenkerne, in der Medulla oblongata, dem Ganglion Gasseri und den Spinalganglien. Negri zögerte nicht, die beschriebenen Körperchen als die Erreger der Wuthkrankheit anzusprechen und sie den Protozoën zuzurechnen. Dieser Mittheilung folgten bald in

kurzer Reihenfolge eine ganze Anzahl von Arbeiten anderer Autoren, die die thatsächlichen Befunde Negri's bestätigten und zum Theil erweiterten. So veröffentlichten Volpino (17) 37 Fälle, D'Amato (18) 32, Daddi (19) 134, Luzzani und Macchi (20) 179, endlich Abbas und Bormans (21) 93. In allen diesen untersuchten Köpfen — es kamen hauptsächlich natürlich Hundegehirne, daneben auch solche vom Menschen, der Kuh, Katze und Kaninchen zur Untersuchung — waren die Negri'schen Körperchen mit Ausnahme von wenigen Fällen vorhanden in Uebereinstimmung mit dem Thierversuch, niemals kam es vor, dass die Versuchsthiere bei Nachweis der Negri'schen Körperchen in dem Impfmaterial nicht erkrankten. Auch Controlversuche, die allerdings bis jetzt erst in spärlicher Zahl vorliegen, hatten dasselbe Ergebniss. Weder bei Thieren, die mit Tetanusgift und Strychnin vergiftet waren, noch im Gehirne einer epileptischen und einer mit einem Gumma in der Regio rolandica behafteten Frau konnte Marzocchi (22) die Negri'schen Körperchen nachweisen. Auch die übrigen Angaben Negri's hinsichtlich der Beschaffenheit und des Sitzes der beschriebenen Gebilde erfuhren bald eine Bestätigung und Erweiterung. So war es Volpino (23) gelungen, durch Färbung nach Laveran eine weitere Differenzirung der Negri'schen Körperchen zu erzielen. Er konnte auf diese Weise eine zarte hyaline, blau gefärbte Membran sichtbar machen. Diese umgab eine hyaline, structurlose, roth gefärbte Masse, in der sich grössere und kleinere, schwach rosa oder sehr schwach blau gefärbte Gebilde befinden. In diesen wieder konnte er sehr kleine intensiv blau gefärbte, punkt-, ring- oder stabförmige Einschnitte sehen. Eine andere Aufgabe hatte sich Bertarelli (24) gestellt. Er setzte das Ammonshorn wuthkranker Hunde der Austrocknung, Hitze und Verwesung aus und konnte feststellen, dass die Negri'schen Körperchen erst geringe Veränderungen zeigten, wenn die Virulenz bereits erloschen war. Da dieser Befund in einem gewissen Widerspruch zu der Specifität der Negri'schen Körperchen zu stehen scheint, letztere auch von einzelnen Autoren Maas (25) nicht gefunden wurden, beauftragte Hr. Geheimrath Prof. Dr. Gaffky mich damit, unter Benutzung des reichen Materials der hiesigen Wuthschutzstation, in Hinsicht auf die diagnostische Verwerthbarkeit der Negri'schen Körperchen Untersuchungen anzustellen.

Bevor ich das Ergebniss meiner Arbeit bespreche, will ich noch etwas ausführlicher auf die Untersuchungstechnik eingehen. Negri giebt an, dass er bei frisch eingelieferten Gehirnen die Diagnose aus Zupfpräparaten in vielen Fällen habe stellen können. Fand er die Körperchen nicht, fertigte er Schnitte an nach Fixirung in Zenker'scher Flüssigkeit und Einbettung in Paraffin. Dieser Methode haften zwei Mängel an. Einmal erfordert sie, wie Negri selbst zugiebt, ein sehr geübtes Auge, um in



den meisten Fällen die Negri'schen Körperchen ungefärbt unter den Gehirnelementen z. B. Neurogliazellen, Myelin u. a. zu erkennen. Zweitens ist in über 50 Procent der Gehirne die zu leistende Arbeit eine doppelte, da bei Fehlen der Körperchen doch Schnitte hergestellt werden müssen, deren Anfertigung nach den gebräuchlichen Methoden mindestens 3 bis 4 Tage erfordert. Diesen zweiten Fehler besitzt auch der Vorschlag Lina Luzani's, Stückchen aus dem Ammonshorne in Zenker'scher Flüssigkeit 12 Stunden zu fixiren, sodann nach kurzem Abspülen in Wasser Abstrichpräparate herzustellen. In dieser Weise findet man thatsächlich die Negri'schen Körperchen weit leichter wie in einem frischen Zupfpräparat, aber auch nur, wenn sie in nicht zu geringer Anzahl vorhanden sind. Ein anderer Nachtheil dieser Methode ist der, dass die Fixation doch etwa 12 Stunden in Anspruch nimmt, ein Nachtheil, den sie mit der von Abbas und Bormans angegebenen theilt. Diese behandeln die Stückchen mit 10procentiger Osmiumsäure, spülen $^1/_2$ bis 4 Stunden in fliessendem Wasser aus und bringen sie auf 3 bis 4 Stunden in absoluten Alkohol. Darauf fertigen sie Schnitte mit dem Rasirmesser an. Die Schattenseiten dieser Methode sind neben der langen Dauer einmal die Schwierigkeit, mit einem Rasirmesser genügend feine Schnitte zu liefern, wie sie zum Erkennen nothwendig sind. Sodann macht auch sie nicht in vielen Fällen die Einbettung in Paraffin überflüssig. Alle diese den beschriebenen Methoden anhaftenden Nachtheile werden nun vermieden bei Anwendung der Schnelleinbettungsmethode mittels Aceton und Paraffin, wie sie von Henke und Zeller (26) angegeben ist. Ich benutze sie seit Anfang Februar d. J. und habe sie bis jetzt an über 200 Gehirnen, die zum Theil schon in ziemlich zersetztem Zustande zur Untersuchung kamen, erproben können. Ich verfahre stets in folgender Weise. Aus der Mitte des Ammonshornes, in dem, wie ich in Uebereinstimmung mit allen anderen Autoren bestätigen kann, die Negri'schen Körperchen am häufigsten und regelmässigsten zu finden sind, wird eine $^1/_2$ bis $^3/_4$ mm dicke Scheibe herausgeschnitten und unmittelbar in etwa 15 ccm reines Aceton gebracht und in diesem bei 37° so lange gelassen, bis sie die Consistenz wie nach Alkoholhärtung hat. Dies ist bei der angegebenen Dicke der Stücke in 30 bis 45 Minuten der Fall. Bei Gehirnen, die bereits stark in Fäulniss übergegangen sind, dauert es länger. Haben die Stückchen die erforderliche Consistenz erreicht, werden sie unmittelbar in flüssig gemachtes Paraffin von etwa 55° übertragen und bei 60° 60 bis 75 Minuten darin belassen. Alsdann werden sie in der üblichen Weise zurecht gemacht und geschnitten. Das ganze Verfahren dauert im Durchschnitt ca. $2^1/_2$ Stunden und liefert Schnittserien von 6 μ Dicke. Die Schnittbänder bringe ich zunächst mit kaltem Wasser, dem etwas



Gummiarabicumlösung zugesetzt ist, auf den Objectträger und lasse sie an einem warmen Ort, z. B. auf dem Paraffinofen von 60° antrocknen, wobei sie sich zugleich ganz glatt legen. Die Schnitte in warmem Wasser aufzufangen empfiehlt sich nicht, da sie sich in diesem leicht aufzulösen beginnen. Nach Entfernung des Paraffins erfolgt die Färbung nach Mann (27). Ich lasse die Schnitte nur $^1/_2$ bis 4 Minuten in der Färbelösung (35 ccm 1 procent. wässerige Methylenblaulösung + 35 ccm 1 procent. wässerige Eosinlösung + 100 ccm destillirtes Wasser), während Mann eine 24 stündige Färbedauer angiebt. Es ist ein weiterer Vortheil der Acetonparaffinmethode, dass sie die Färbungszeit ausserordentlich abkürzt. Nach kürzerem Abspülen in Wasser und absolutem Alkohol, kommen die Schnitte für 15 bis 20 Secunden in absoluten Alkohol, dem etwas Natronlauge zugesetzt ist (auf 30 ccm Alkoh. abs. 5 Tropfen einer 1 procent. Lösung von Natronlauge in absolutem Alkohol). Hierauf folgt wieder ein kurzes Abspülen in absolutem Alkohol und Uebertragung der Schnitte für 1 Minute in gewöhnliches Wasser. Nach einem weiteren Aufenthalt von 1 bis 2 Minuten in Wasser, das mit Essigsäure leicht angesäuert ist, werden die Schnitte schnell entwässert und in Canadabalsam eingebettet. Um es kurz noch einmal zu wiederholen:

Aceton 30 bis 40 Minuten.
Paraffin 60 „ 75 „
Einbetten, Schneiden, Aufkleben, Trocknenlassen.
Färbung nach Mann $^1/_2$ bis 4 Minuten.
Kurzes Abspülen in Wasser.
„ „ „ abs. Alkohol.
Abs. Alkohol + Natronlauge 15 bis 20 Secunden.
Abspülen in abs. Alkohol.
Wasser 1 Minute.
Wasser und Essigsäure 2 Minuten.
Schnelles Entwässern.
Einbetten.

Es gelingt auf diese Weise leicht, schon in 3 Stunden Schnitte herzustellen, wie es bei keinem früheren Verfahren möglich war. Es ist natürlich, dass die Färbung der Präparate um so besser ausfällt, je frischer die Gehirne zur Untersuchung gelangen. Da in der heissen Jahreszeit die Gehirne sich während des Transportes häufig so zersetzen, dass die einzelnen Regionen nicht mehr zu erkennen sind, würde es sich empfehlen, das Gehirn nach der Section in Glycerin einzulegen und so der nächsten Untersuchungsstelle zuzusenden. Ich habe ein Gehirn, dass ich 3 Tage in Glycerin belassen hatte, auch noch nach der angegebenen Methode

untersuchen können. Da es bei einiger Uebung — ein gutes Mikro
vorausgesetzt — möglich ist, drei Gehirne in 1 bis $1^1/_4$ Stunde zu schnei
und zu färben, so ist das schnelle Einbettungsverfahren allen and
Untersuchungsmethoden an Sicherheit und Arbeitsersparniss überle
erfordert doch sorgfältiges Durchmustern von Zupf- und Abstrichpräpar
mehr Zeit als die Durchsicht gefärbter Schnitte. Die Schnelleinbettu
methode bietet also drei grosse Vortheile: Einfachheit, Schnelligkeit, Sic
heit, Eigenschaften, die vereint keine der oben angegebenen Meth
besitzt.

Die von mir untersuchten Gehirne will ich in zwei Gruppen
theilen. In der ersten werden die zwecks Stellung der Diagnose
gesandten Köpfe besprochen werden, während die zweite die Con
untersuchungen umfassen soll. Die eingesandten Gehirne wurden so
als möglich in der beschriebenen Weise untersucht und der Ausfall
mikroskopischen Untersuchung mit dem Ergebniss der Thierver
verglichen. Diese wurden bei uns in der üblichen Weise von
Dr. Meinicke ausgeführt, dem ich für seine Mühe auch an dieser S
danke. Es kamen in ca. 4 Monaten 170 Gehirne zur Untersuch
Von diesen stammten 4 vom Menschen, 6 von Kühen, 3 von Kat
157 von Hunden.

Das Resultat im Einzelnen ergiebt folgende Tabelle:

	Menschen	Kühe	Katzen	Hunde
Untersucht wurde das Material von	4	6	3	157
Davon waren positiv im Thierversuch und in der mikroskopischen Untersuchung	4	2	—	93
Positiv nur im Thierversuch	—	1	—	9
Positiv weder im Thiervers. noch i. d. mikr. Unters.	—	3	3	55

Wenn die Zahl meiner negativen Befunde etwas höher ist wie
anderer Autoren, so ist es wohl darauf zurückzuführen, dass stets nur
Ammonshorn untersucht wurde. Ein anderer Grund ist vielleicht
dass ein Theil dieser Hunde schon bei den ersten verdächtigen Ers
nungen getödtet wurde. Praktisch am wichtigsten ist aber wohl die T
sache, dass es niemals vorkam, dass die Versuchsthiere bei Nachweis
Negri'schen Körperchen im Impfmaterial am Leben geblieben sind.
den 4 an Lyssa erkrankten Menschen waren 2 während der Wuthsch
behandlung gestorben, 2 hatten sich der Schutzimpfung nicht unterzo
Von diesen 4 Fällen habe ich 2 auf das Vorkommen der Negri's



Körperchen in anderen Hirngegenden hin näher untersucht. Der erste Fall betraf eine 51 jährige Frau, die nach einer Incubationszeit von 58 Tagen an Lyssa erkrankte und am 3. Tage starb. Die Negri'schen Körperchen waren nachweisbar: zahlreich im Ammonshorn, wenige im Kleinhirn und in der Rinde und vereinzelte in der Medulla oblongata. m Thalamus opticus und in der Brücke fehlten sie. Im zweiten Falle andelte es sich um einen 25 jährigen Mann, bei dem am 6. Tage nach rfolgtem Bisse die Schutzimpfung begonnen wurde. Am 16. Tage der Behandlung erkrankte er an Lyssa und starb 3 Tage darauf. Bei ihm anden sich die Negri'schen Körperchen zahlreich im Ammonshorn, in eringer Anzahl im Kleinhirn, vereinzelt in der Rinde, Medulla oblongata, la cinerea und Thalamus opticus. Sie fehlten im Nucleus caudatus, er Brücke und im Rückenmark. Man findet sie also am häufigsten im mmonshorn, viel weniger zahlreich im Kleinhirn und der Hirnrinde, n den übrigen Regionen, wenn überhaupt, erst nach langem Suchen.

Was nun die Vertheilung der Negri'schen Körperchen im Ammonsorne selbst betrifft, so sind sie am häufigsten in der Gegend zu finden, n der die Schichten der grossen Ganglienzellen vom Ammonshorn und er Fimbrie zusammenstossen. Diese Stelle ist im ersten der beigegebenen hotogramme dargestellt, die in bekannter Meisterschaft Hr. Prof. Zettnow ergestellt hat. Nahezu ebenso zahlreich findet man sie dann in den ich anschliessenden grossen Ganglienzellen des Ammonshornes, während ie in dem weiter entfernten Abschnitte eine starke Abnahme erfahren. Hinsichtlich der Grösse und Häufigkeit der Negri'schen Körperchen beehen ganz ausserordentliche Unterschiede. Während man in manchen ällen mächtige, schon mit schwacher Vergrösserung deutlich sichtbare ormen in jeder Zelle findet, gelingt es in anderen erst nach langem urchmustern der Schnitte einige kleine Negri'sche Körperchen zu Gesicht u bekommen. Aber auch in den letzteren Fällen sind sie wohl zu erennen und von den bei der Färbung nach Mann sich ebenfalls roth ärbenden rothen Blutzellen und Kernkörperchen deutlich zu unterscheiden, inmal durch den Farbenton, was bei Vergleichen sofort auffällt. Ein weites Erkennungsmerkmal ist die fast ausnahmslos intracelluläre Lage ei erhaltenem Kern und Kernkörperchen. Auf die vacuolenartige Structur llein möchte ich, so werthvoll sie für die grösseren Formen ist, bei den leineren weniger Gewicht legen, da ich sie auch bei Kernkörperchen ahe beobachten können. Die Form der Negri'schen Körperchen ist neist eine runde, ovale oder spindelförmige. Letztere findet sich voriegend in den Zellfortsätzen, wo sie häufig eine Hervorwölbung derselben ewirkt. Daneben sieht man auch dreieckige mit abgerundeten Ecken, lliptische und birnförmige Formen. Zuweilen kann man beobachten, wie

die elliptischen Formen durch einen deutlich schräg verlaufenden Spalt in zwei Theile getheilt sind. Auch die übrigen Angaben Negri's und Volpino's kann ich bestätigen. Ich bediente mich der von Held (28) modificirten Nissl'schen Granulafärbung mittels Erythrosin und Seifenmethylenblau. Ist die Färbung gut gelungen — was nicht immer möglich ist —, sieht man eine homogene von einer feinen blauen Membran umgebene Masse. In ihr finden sich verschiedene Vacuolen, in deren Centrum ein dunkelblau gefärbtes, punkt-, ring-, stab- oder hantelförmiges Gebilde sichtbar wird. In den grösseren Formen haben die Vacuolen oft eine regelmässige Anordnung. In den runden ist eine grosse Vacuole im Centrum von einem Kranze kleinerer umgeben. Bei den ovalen Formen sieht man zwei grössere in der Mitte und ebenfalls einen Kranz kleinerer an der Peripherie. In den spindelförmigen bilden 3 bis 6 Vacuolen gleicher Grösse eine Kette.

Die Controluntersuchungen umfassen die Gehirne von 50 Hunden. Von diesen wurden 5 mit Strychninum nitricum vergiftet, 1 starb an Staupe, 1 an Tse-Tse, 1 nach 5 tägigem Hungern, 2 an septischen Erkrankungen. 40 waren der Thierärztlichen Hochschule von den Besitzern zwecks Vergiftung zugeführt worden. Welche Erkrankungen bei ihnen vorlagen, habe ich nicht in Erfahrung bringen können. Für ihre Ueberlassung spreche ich auch an dieser Stelle Hrn. Geheimrath Prof. Dr. Schütz meinen verbindlichsten Dank aus. Auch diese Gehirne wurden untersucht wie oben beschrieben, nur wurden von jedem mehr Schnitte angefertigt. Trotz sorgfältigen Suchens ist es mir niemals gelungen, Negri'sche Körperchen zu finden oder andere Gebilde, die mit diesen verwechselt werden konnten. Es wäre mit Rücksicht auf die von Kleine (29) veröffentlichten Befunde erwünscht gewesen, Infectionskrankheiten mit unbekannten Erregern, besonders Staupe, noch mehr zur Controle heranzuziehen. Leider konnte ich zur Zeit nicht mehr Staupefälle zur Untersuchung bekommen, und es wären daher weitere Controluntersuchungen in dieser Richtung hin noch vorzunehmen.

Das Ergebniss der vorliegenden Arbeit können wir also dahin zusammenfassen, dass die Negri'schen Körperchen als specifisch für Lyssa anzusehen sind. Durch die Schnelleinbettungsmethode ist man jetzt im Stande, innerhalb weniger Stunden die Diagnose zu stellen mit der Maassgabe, dass nur der positive Befund entscheidend ist. Ist der Befund negativ, muss man noch auf den Thierversuch zurückgreifen. Wie wichtig aber ein positiver Befund sein kann, mag folgendes Beispiel aus der Praxis lehren. Ein Hund biss 4 Personen und wurde alsbald getödtet. Da die übrigen Symptome sehr unsicher waren, auch die Obduction keinerlei Anhaltspunkte für Wuth gab, hielt der Thierarzt Wuth nahezu für aus



geschlossen, sandte aber zur Sicherheit den Kopf zur Untersuchung ein. Diese ergab den positiven Befund an Negri'schen Körperchen, und damit war die Diagnose gesichert. Auf telegraphische Mittheilung derselben entschlossen sich die gebissenen Personen der Schutzimpfung sich zu unterziehen, was sie vorher bei der Unsicherheit der Diagnose abgelehnt hatten. Das Warten auf das Ergebniss des Thierversuches aber hätte die Behandlung um mindestens 10 Tage verzögert.

Welches ist nun die Natur dieser Körperchen? Gewiss ist es Angesichts der Bilder, die man zu sehen bekommt, recht verführerisch, sie als die Erreger der Lyssa oder als Entwickelungsformen derselben anzusprechen. Solange man aber nicht im Stande ist, eine hinreichende Erklärung für den Widerspruch zwischen ihrer Grösse und der durch Schüder (30) nachgewiesenen Filtrirbarkeit des Wuthgiftes durch bakteriendichte Filter zu geben, vor Allem aber ihr Fehlen in den Stellen, deren Virulenz erwiesen ist, wie z. B. im Rückenmark zu erklären, ist die parasitäre Natur dieser Gebilde als fraglich zu bezeichnen.

Zum Schlusse danke ich Hrn. Geheimrath Prof. Dr. Gaffky und Hrn. Prof. Dr. Frosch für das der Arbeit entgegengebrachte grosse Interesse und ihre vielfache Förderung derselben.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Memmo, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Bd. XX.
2. Bruschettini, *Ebenda.*
3. Marx, *Ebenda.* Bd. XX u. XXI.
4. Grigoriew, *Ebenda.* 1897. Bd. XXII.
5. Guanieri, *Clin. med., Firenze.* Vol. IX. Nr. 14. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903.
6. Babes, *Bull. de l'acad. de méd.* 1900.
7. van Gehuchten und Nélis, *Bull. de l'acad. de Belgique.* 1900.
8. Ramón y Cajat, *Trabajos.* 1904. Vol. III.
9. Golgi, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1894.
10. Manolian, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1903.
11. Bosc, *Ebenda.*
12. Germano, und Capobianco, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.
13. Benedikt, Virchow's *Archiv.* 1875 u. 1878.



14. Ferré und Thézé, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1903.

15. Liénaux, *Annal. de méd. vét.* 1901.

16. Négri, *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLIII u. XLIV.

17. Volpino, *Riv. d'Igiene i sanita publica.* 1903. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904.

18. D'Amato, *Atti del XIII. congresso di medicina interna.* Padova 1903.

19. Daddi, *Rivista critica di clinica med.* 1903. Nr. 22. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904.

20. Luzzani und Macchi, *Diese Zeitschrift.* 1905.

21. Abba et Bormans, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1905. Nr. 1.

22. Marzocchi, *Arch. per le sc. med.* A. XXVIII. 1904. — Ref. *Bullet. de l'Institut Pasteur.* 1905. Nr. 5.

23. Volpino, *Arch. per le sc. med.* A. XXVIII. 1904. — *Rev. Ig. e san. pub.* A. XVI. 1905. — Ref. *Bullet. de l'Institut Pasteur.* 1905. Nr. 5.

24. Bertarelli, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904.

25. Maas, *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 3.

26. Henke und Zeller, *Centralblatt für pathol. Anatomie u. allgem. Pathol.* 1905. Nr. 2.

27. Mann, *Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie.* 1896.

28. Held, *Archiv für Anatomie.* 1897.

29. Kleine, *Diese Zeitschrift.* 1905.

30. Schüder, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 39.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. III.)

Photogramme angefertigt von Hrn. Prof. Zettnow.

Fig. 1. Schnitt durch das Ammonshorn eines Hundes. Vergrösserung 1:30.

Fig. 2. Negri'sche Körperchen, meist intracellulär neben dem Kerne liegend. Vergrösserung 1:370.

Fig. 3. Zwei grosse Formen von Negri'schen Körperchen. Sie liegen intracellulär und zeigen deutlich vacuolenartige Structur. Vergrösserung 1:1000.



[Aus dem Königl. Institut für experim. Therapie zu Frankfurt a/M.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Weiterer Beitrag zur Charakterisirung der Hogcholera- (Paratyphus-) Gruppe.

Von

Dr. **A. Böhme,**
Assistenten der bakteriologischen Abtheilung.

In einer unter dem Titel „Zur Charakterisirung der Hogcholeragruppe" im Centralblatt für Bakteriologie u. s. w., Bd. 38, Heft 1 erschienenen Arbeit aus der bakteriologischen Abtheilung des Instituts hatte Henry Smidt in Fortführung früherer Arbeiten von Durham[1], de Nobele[2], Schottmüller[3], Trautmann[4], Bonhoff[5], Trommsdorff[6] die enge Zusammengehörigkeit einer ganzen Reihe pathogener Bakterien betont, die nach einem ihrer typischen Vertreter unter dem Namen „Hogcholeragruppe" (Theobald Smith) zusammengefasst werden können. Hierher sind zu rechnen die Bakterien der Hogcholera im engeren Sinne (amerikanischen Schweinepest), des Mäusetyphus, der gastrointestinalen Form der Fleischvergiftungen (Typus Aertryck) und die Bacillen des Paratyphus B. Nach ihrem culturellen und agglutinativen Verhalten, wie nach dem Ausfall der Thierversuche zeigen diese Bakterien so grosse Uebereinstimmung, dass die Zutheilung eines der Gruppe angehörigen Stammes zu einer bestimmten der oben genannten Species im Einzelfalle nicht mit Sicherheit getroffen

[1] *Transactions of the pathological Society of London.* 1899.
[2] *Annales de la Société de Médecine de Gand.* 1901.
[3] *Münchener med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 7 u. 8.
[4] *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLV. S. 139.
[5] *Archiv für Hygiene.* 1904. Bd. L. S. 222.
[6] *Münchener med. Wochenschrift.* 1903. S. 2092.



werden kann. Nach den Untersuchungen von de Nobele, Trautmann und H. Smidt gehören von den Fleischvergiftern nur die von de Nobele als Typus Aertryck[1] bezeichneten Stämme dieser Gruppe in strengerem Sinne zu, während der sog. Typus Gärtner trotz völliger cultureller Uebereinstimmung in seinem Verhalten agglutinirendem Serum gegenüber erhebliche Abweichungen zeigt. H. Smidt empfahl, zur Feststellung der Zugehörigkeit eines Bakteriums zur Hogcholeragruppe — abgesehen von der culturellen Prüfung — die Agglutination durch polyvalentes Schweinepestserum zu benützen, das die Fähigkeit hat, die sämmtlichen Glieder der Gruppe noch in recht erheblicher Verdünnung zu agglutiniren, während monovalente Sera die verschiedenen Stämme sehr ungleichmässig agglutiniren.

Auf Veranlassung und mit freundlicher Unterstützung von Hrn. Prof. M. Neisser suchte ich die von H. Smidt begonnene Arbeit weiter fortzuführen und dehnte dabei die Untersuchung auf einen anderen, den Bacillen der Hogcholeragruppe nahestehenden Stamm, den von Nocard entdeckten Bacillus der Psittacose, aus, dessen Verwandtschaft mit den Bacillen der Fleischvergiftungen schon Durham und de Nobele betont hatten. Ich möchte an dieser Stelle nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, dass schon im Jahre 1899 Durham auf die engen Beziehungen aufmerksam machte, die zwischen den Bacillen der Fleischvergiftungen und den Erregern verschiedener Thierkrankheiten, so des Mäusetyphus, der Psittacose, der Pseudotuberculose bestehen. Er deutet bereits die Möglichkeit an, dass diese Bakterien unter Umständen Schlachtvieh inficiren und so das Fleisch für den Menschen infectiös machen könnten. Zu ähnlichen Schlüssen kommt de Nobele[2] (van Ermengem's Laboratorium), der neben der Psittacose besonders auf die Beziehungen der Schweinepest zu den Fleischvergiftern aufmerksam macht. van Ermengem selbst weist in seiner erwähnten Monographie über die Bakterien der Fleischvergiftungen erneut nachdrücklich auf die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenhanges zwischen jenen Thierkrankheiten und den Fleischvergiftungen hin.

Ueber den Bacillus der Psittacose, von dem unsere Untersuchungen ausgingen, seien einige zusammenfassende Bemerkungen vorausgeschickt. Schon seit 1879 (Ritter)[3] war bekannt, dass im Anschluss an eine tödtliche Erkrankung frisch importirter Papageien bei Personen, die mit diesen Thieren in nähere Berührung gekommen waren, sich häufiger schwere, zum Theil tödtliche Erkrankungen einstellten. Es handelte sich dabei um

[1] de Nobele, a. a. O. und van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen in Kolle-Wassermann's *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.* Bd. II.

[2] A. a. O.

[3] Citirt nach Nocard et Leclainche, *Maladies microbiennes.* Paris 1903.



eine atypische, oft mit typhösen Erscheinungen einhergehende Pneumonie. Als im Jahre 1892 im Anschluss an eine frische Sendung kranker Papageien in Paris eine solche Epidemie ausbrach, gelang es Nocard[1] in dem Knochenmark eines verendeten Papageien einen Bacillus in Reincultur nachzuweisen, den er nach den Ergebnissen seiner Thierversuche als Erreger der Papageienkrankheit und wahrscheinlich auch der menschlichen Infectionskrankheit ansprach. Bei den durch Fütterung inficirten Papageien, die unter Durchfall und Abmagerung innerhalb einiger Wochen, mitunter auch schneller, zu Grunde gingen, ergab die Section eine schwere, zum Theil ulceröse Enteritis, Milzvergrösserung und Ekchymosen des Peritoneums. Wiederholt wurde auch nach Nocard aus Papageien, die unter den gleichen Erscheinungen erkrankt waren, der Nocard'sche Bacillus isolirt, und Nocard's Ansicht, dass dieser Bacillus auch der Erreger der als Psittacosis bezeichneten menschlichen Erkrankung sei, erhielt die gewichtigste Stütze, als es Gilbert und Fournier[2] gelang, aus dem Blute eines Psittacosekranken den gleichen Bacillus zu isoliren. Es darf andererseits nicht verschwiegen werden, dass bei verschiedenen menschlichen Psittacosisepidemieen vergeblich nach diesem Bacillus gesucht wurde, dass auch das Patientenserum im Allgemeinen keine agglutinirende Wirkung auf den Nocard'schen Bacillus ausübte. Weitere Untersuchungen über diese Frage wären am Platze. Immerhin darf die ursächliche Bedeutung des Bacillus von Nocard für die geschilderte Papageienerkrankung und sein gelegentliches Vorkommen bei psittacosekranken Menschen wohl als sicher gelten.

Veranlasst durch die morphologischen und culturellen Beziehungen und die Aehnlichkeit der durch die beiden Bakterien verursachten Krankheiten, prüfte Bensaude[3] das Verhalten des Bacillus psittacosis gegenüber dem Serum Typhuskranker, konnte aber nur in einer Verdünnung von 1:10 Agglutination feststellen. Nach den schon erwähnten Arbeiten von Durham und de Nobele wird der Psittacosestamm von dem Serum von Personen, die an Fleischvergiftung litten (bezw. von einem mit dem Bacillus der Fleischvergiftung hergestellten, hochwerthigen, künstlichen Immunserum) noch in stärkeren Verdünnungen agglutinirt, und zwar zeigt sich die Verwandtschaft besonders dem Typus Aertryck gegenüber.

Diese Untersuchungen liessen auch eine enge Beziehung zu den anderen Vertretern der Hogcholera voraussetzen. Zur Prüfung der Frage diente uns eine von Král bezogene Cultur, von deren Reinheit wir uns

[1] *Maladies microbiennes.* Paris 1903.
[2] Citirt nach Baumgarten's *Jahresbericht.* 1896. S. 496.
[3] Bensaude, *L'agglutination des microbes.* Paris 1897.



durch Plattenaussaat überzeugten. Nach ihren morphologischen Eigenschaften entsprach die Cultur völlig der von Nocard gegebenen Beschreibung und stimmte ebenso mit den Stämmen der Hogcholeragruppe überein. Die culturelle Prüfung wurde im Zusammenhang mit einer ausgedehnten Untersuchung aller übrigen in unserem Besitz befindlichen Stämme der Hogcholeragruppe (12); ebenso einer grösseren Anzahl von Typhus- (6), Coli- (21), Dysenterie (4)-stämmen u. s. w. vorgenommen. Die Impfung der Röhrchen geschah stets mit mehreren Tropfen einer eintägigen Bouilloncultur. Die Prüfung erstreckte sich auf die von Barsiekow[1] angegebenen, mit verschiedenen Zuckerarten versetzten Lackmus-Nutrose-Nährböden, Petruschky's Lackmusmolke, Milch, Gelatinestich, Gelatineplatten, Rothberger's Neutralrothnährböden und die Prüfung auf Gasbildung in Traubenzuckeragar und Indolbildung[2] in Bouillon.[3] Sämmtliche Untersuchungen wurden wiederholt ausgeführt, die Beobachtungsdauer umfasste 12 Tage. Auf allen Nährböden zeigte sich eine völlige Uebereinstimmung der sämmtlichen zur Hogcholeragruppe gehörenden Stämme einschliesslich der Psittacose (also des Paratyphus B, des Mäusetyphus, der Schweinepest, der Psittacosis, der Bacillen der Fleischvergiftungen). Nur geringe quantitative Unterschiede in Bezug auf die Alkalibildung in Lackmusmolke machten sich geltend. Während Paratyphus B im Allgemeinen erst später[4], etwa vom 5. Tage ab, den Farbenumschlag von roth in blau aufwies, trat die gleiche Veränderung bei Mäusetyphus und den meisten Schweinepeststämmen schon am 2. Tage auf; ein Schweinepeststamm, die zu den Fleischvergiftern gehörigen Stämme Aertryck, Gärtner und Moorseele[5] und unser Psittacosestamm zeigten schon nach 24 Stunden Blaufärbung. Ganz die gleiche Beobachtung hatte bezüglich Paratyphus B, Mäusetyphus und Bacillus enteriditis Gärtner bereits Bonhoff gemacht. Die von anderer Seite empfohlene, von Schottmüller[6] als ungeeignet verworfene Differen-

---

[1] *Wiener klin. Rundschau.* 1901.

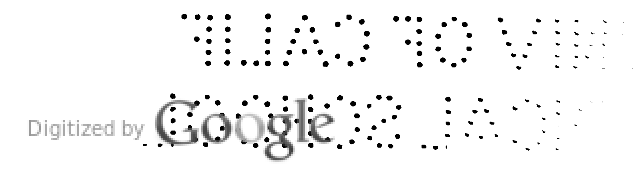
[2] Die Prüfung auf Indol geschah mit Hülfe der Ehrlich'schen Paradimethylamidobenzaldehydreaction, deren Anwendbarkeit für bakteriologische Zwecke in einer demnächst im *Centralblatt für Bakteriologie* erscheinenden Arbeit des Verfassers besprochen wird.

[3] Für die wesentliche Unterstützung bei der culturellen Untersuchung bin ich Hrn. Collegen Dr. Kranepuhl zu besonderem Danke verpflichtet.

[4] Ein von Hrn. Dr. Kranepuhl aus einem Abscess am Oberschenkel gezüchteter und in der *Münchener med. Wochenschrift,* 1905, Nr. 28 beschriebener Paratyphusstamm bildete dagegen in Lackmusmolke bereits nach 24 Stunden Alkali.

[5] Die Stämme Aertryck und Moorseele verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Hrn. Prof. van Ermengem-Gent.

[6] A. a. O.



zirung der verschiedenen Stämme in der Gelatine-Oberflächencultur ergab keine constanten, für eine bestimmte Art charakteristischen Unterschiede.

Die Virulenzprüfung des Bacillus der Psittacose bei Mäusen und Meerschweinchen ergab ähnliche Resultate, wie sie etwa für Mäusetyphus oder andere Glieder der Hogcholeragruppe bestehen: starke Infectiosität bei subcutaner und intraperitonealer Injection und die Möglichkeit, tödtliche Erkrankungen auch bei stomachaler Einverleibung zu erzeugen. In allen Fällen lässt sich der Bacillus im steril entnommenen Herzblut der verendeten Thiere nachweisen.

Die bisherige Untersuchung hatte also — von geringen Unterschieden beim Wachsthum in Lackmusmolke abgesehen — die völlige Uebereinstimmung der Psittacose mit den sämmtlichen übrigen der Hogcholeragruppe angehörenden Stämmen ergeben. Es waren nun die Immunitätsreactionen der Psittacose zu prüfen.

Durch intravenöse Injection von mit Formol abgetödteten Psittacosebacillen gelang es, ein Kaninchenserum zu erhalten, das den homologen Stamm in einer Verdünnung von 1:8000 noch sehr stark agglutinirte, also als ziemlich hochwerthig anzusehen war. Zur Agglutinationsprüfung bedienten wir uns der schon seit langem im hiesigen Laboratorium üblichen, von Pröscher[1] beschriebenen Methodik. Die folgende Tabelle giebt die Agglutinationswerthe des Psittacoseserums für die anderen zur Hogcholeragruppe gehörigen Bakterien, sowie für Typhus und Paratyphus A an. Die Zahlen bezeichnen die stärkste Serumverdünnung, bei der nach zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank noch ausgesprochene Häufchenbildung eingetreten war.

Psittacose	Aertryck	Paratyphus B	Schweinepest	Mäusetyphus	Typhus	Gärtner	Paratyphus A
8000	8000	4000	4000	1000	400	< 50	< 50

Der Ausfall bestätigt die nahe Verwandtschaft des Psittacosebacillus mit den übrigen Stämmen der Hogcholeragruppe und dieser Stämme unter einander. Die Agglutinationswerthe für Psittacosis, Stamm Aertryck, Paratyphus B, Schweinepest sind ungefähr von derselben Grössenordnung. Für Mäusetyphus zeigt das Serum allerdings schon einen niedrigeren Titer, der sich dem für Typhus nähert. Bemerkenswerth ist, dass unser Gärtnerstamm von dem Psittacoseserum überhaupt nicht beeinflusst wird, dass also die Scheidung die de Nobele, Trautmann, Smidt zwischen dem Typus Aertryck und dem Typus Gärtner der Enteritis-Bacillen

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Nr. 9.



machen, eine Scheidung, die sich auch schon in den vor diesen Arbeiten veröffentlichten Tabellen Durham's[1] ausspricht, auch durch die Agglutination mit Psittacoseserum vollauf bestätigt wird. Auch aus den Versuchen v. Drigalski's[2] geht hervor, dass unter den Fleischvergiftern zwei ihrem agglutinativen Verhalten nach verschiedene Gruppen zu trennen sind; diese Gruppen v. Drigalski's stimmen mit denen der oben genannten Autoren völlig überein — abgesehen von der Stellung des Stammes Gärtner. Während nach de Nobele dieser als Repräsentant der Gruppe Moorseele, Bruges, Gand angesehen werden darf, stellt v. Drigalski ihn gerade zu der Aertryckgruppe. Aehnlich finden Bonhoff und Schottmüller[3] bei der Agglutinationsprüfung die nahe Verwandtschaft des Gärtnerstammes zum Paratyphus B. Diese Widersprüche erklären sich vielleicht daraus, dass anscheinend mehrere ihrem Ursprung nach verschiedene Gärtnerstämme im Umlauf sind, von denen vielleicht einer der Aertryckgruppe angehört. Die Stellung des von Basenau[4] in Forster's Laboratorium gefundenen Bacterium morbificans bovis, der weitgehende Uebereinstimmung mit den Fleischvergiftern zeigt, ist wohl noch nicht genau festgelegt.

Die Beeinflussung des Typhusstammes durch das Psittacoseserum erinnert an die wiederholt, zum Theil in viel stärkerem Maasse beobachtete Mitagglutination der Typhusbacillen durch Serum Paratyphus B (Conradi, v. Drigalski und Jürgens[5]; Korte.[6])

Vergleichen wir mit obigen Ergebnissen die Agglutination der zur Hogcholeragruppe gehörenden Stämme durch einige andere monovalente Sera:

Serum	Stamm						
	Psittacose	Paratyphus B	Aertryck	Schweinepest	Mäusetyphus	Gärtner	Typhus
Paratyphus B	400	20 000	< 100	500	< 500	< 100	
Mäusetyphus.	800				16 000		
Aertryck . . .	4000	100?	20 000	20 000		< 100	< 100

Es fällt hier auf, dass das gegen den homologen Stamm so hochwerthige Paratyphusserum die übrigen zur Hogcholeragruppe gerechneten Stämme nur auffallend wenig beeinflusst, besonders den Aertryckstamm fast gar

[1] A. a. O.
[2] *Festschrift* für Robert Koch. Jena 1903.
[3] A. a. O.
[4] *Archiv für Hygiene.* 1894. Bd. XX. — 1898. Bd. XXXII.
[5] *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLII.
[6] *Ebenda.* 1903. Bd. XLIV. S. 243.



nicht agglutinirt. Umgekehrt agglutinirt hochwerthiges Aertryckserum den Schottmüller'schen Paratyphusstamm nur in ganz geringem Maasse. Die geringe Beeinflussung nahestehender Arten durch Paratyphusserum geht auch aus den Tabellen Zupnik's[1] hervor, der ebenfalls mit hochwerthigen Sera arbeitet. Henry Smidt musste ähnliche Erfahrungen machen, so lange er mit monovalentem Schweinepestserum agglutinirte. Dieser beschränkten Wirksamkeit der meisten monovalenten Sera gegenüber ist nun die Vielseitigkeit des Psittacoseserums besonders bemerkenswerth, die ihren Ausdruck in der gleichmässigeren Agglutination der ganzen Gruppe findet, andererseits auch in dem Uebergreifen auf einen culturell sicher abzutrennenden Stamm, den Typhusbacillus. Wir werden dieser vielseitigen Leistungsfähigkeit des Psittacoseserums noch einmal und in noch ausgesprochenerem Maasse begegnen.

Erwähnt sei noch, dass das polyvalente Schweinepestserum, das von H. Smidt zur Identificirung von Bakterien der Hogcholeragruppe empfohlen ist, sich auch der Psittacose gegenüber bewährt hat. Es agglutinirte die Stämme Schweinepest, Aertryck, Paratyphus B, Psittacose sämmtlich in gleicher Höhe, und zwar bis zu der Verdünnung 1:6400.

Zur weiteren Klärung der Frage, wie weit die Psittacose mit den anderen Stämmen der Hogcholeragruppe verwandt, wie weit diese unter einander verwandt sind, wurde der Pfeiffer'sche Versuch bezw. die Prüfung des Serumschutzes herangezogen. Unser Psittacosestamm zeichnete sich durch eine erhebliche Virulenz aus; $^1/_{100}$ Oese (die Oese zu 3 ^{mg}) tödtete bei intraperitonealer Injection Meerschweinchen von 250 ^{grm} regelmässig innerhalb 18 Stunden. Auch die sämmtlichen anderen im Schutzversuch geprüften Stämme der Gruppe besassen die gleiche Virulenz oder liessen sich durch einige Meerschweinchenpassagen leicht auf dieselbe bringen. (Der Typhusstamm Berlin erreichte nach zwei Passagen eine Virulenz von $^1/_{50}$ Oese.) Zur Anstellung des Versuches wurde den Thieren die mindestens 10 fach tödtliche Dosis (also $^1/_{10}$ Oese) einer 1 tägigen Agarcultur in 1 ^{ccm} Bouillon, gemischt mit der zu prüfenden Serumdosis, intraperitoneal injicirt. In verschiedenen Intervallen nach der Injection wurde mit der Capillare Peritonealexsudat zur Prüfung der Bakteriolyse entnommen. Wie bei Typhusbacillen (Marx[2], O. Lentz[3]) tritt auch bei

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. IL.

[2] Marx, *Die experimentelle Diagnostik, Serumtherapie und Prophylaxe der Infectionskrankheiten.* Berlin 1902.

[3] O. Lentz, Immunität bei Typhus. Kolle-Wassermann's *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.* Bd. IV. Thl. 2.



den Bacillen der Hogcholeragruppe die Auflösung der Bakterien mitunter nur langsam und unvollständig ein. Sehr viel augenfälligere Unterschiede ergeben sich dagegen, wenn man das Verhalten der Thiere am Tage nach der Injection vergleicht. Während die nur mit Cultur oder mit Cultur und Normalserum gespritzten Thiere regelmässig der Infection erlegen sind, sind die mit schützenden Dosen des Psittacoseserums behandelten Thiere völlig munter. Die Tabellen I und II bringen eine Zusammenfassung aller Versuchsergebnisse.

Wie aus Tabelle I hervorgeht, schützt noch die geringe Menge von $^1/_{10000}$ ccm Psittacoseserum gegen die 10 fach tödtliche Dosis, und zwar nicht nur des homologen Stammes, sondern auch der anderen Glieder der Gruppe und sogar des Typhus. (Wir kommen auf die Schlüsse, die sich aus diesen Uebereinstimmungen ergeben, noch später zurück.) Es muss gleich hier hervorgehoben werden, dass durch das Serum, wie bereits Bonhoff[1] für Mäusetyphusserum gegenüber Mäusetyphus und Paratyphus B gefunden hat, kein Schutz im strengeren Sinne bewirkt wird. Obwohl die mit Cultur und Psittacoseserum behandelten Thiere zunächst, wenn die Controlen bereits sämmtlich gestorben sind, noch völlig munter erscheinen, beginnen sie doch bald abzumagern und sterben nach etwa 5 bis 15 Tagen; die Menge des Serums ist dabei trotz dessen Hochwerthigkeit auf den Zeitpunkt des Todes ohne Einfluss. Auch wiederholte Seruminjectionen vermögen das Thier nicht zu retten, nicht einmal den Tod hinauszuschieben. Ebenso war gegen bedeutend kleinere Culturdosen ($^1/_{100}$ Oese) durch das Serum kein völliger Schutz zu erreichen. Während in unseren sämmtlichen mit Stämmen der Gruppe ausgeführten „Schutz"versuchen diese Eigenthümlichkeit in gleicher Weise hervortrat, lässt sich gegen die intraperitoneale Infection mit Typhus durch Immunserum ein völliger Schutz erzielen. In Versuchen mit Psittacoseserum gegen Typhus boten die sämmtlichen Thiere, selbst die mit nur $^1/_{10000}$ ccm Serum gespritzten, ebenfalls zu keiner Zeit nach der Injection irgend welche Krankheitssymptome dar und blieben dauernd am Leben; das fremdartige Serum wirkte hier, auf Typhusbacillen, also ebenso wie das homologe, ganz anders wie den nächst verwandten Stämmen gegenüber.

Diese Versuche, deren Ausfall also lediglich von der angewandten Bakteriengattung abhängt, scheinen uns zusammen mit denen Bonhoff's einen Gegensatz von principieller Bedeutung aufzudecken. Während den Typhusbacillen gegenüber (bei intraperitonealer Einverleibung, zugleich mit dem Serum) ein wirklicher Serumschutz leicht möglich ist, lassen die paratyphusartigen Bacillen — es handelt sich zunächst um Meer-

[1] A. a. O.



Typhus wurde $^1/_4$ Oese, also wieder die etwa 10 fach tödtliche Dosis injicirt.)

Cubikcentimeter des Serums	**Psittacosisserum**, geprüft auf Stamm						**Normales Kaninchenserum**, geprüft auf Stamm					
	1. Psittacosis	2. Mäusetyphus	3. Schweinepest	4. Paraty. B (Seemann)	5. Typhus Berlin	6. Moorseele	1. Psittacosis	2. Mäusetyphus	3. Schweinepest	4. Paratyphus B	5. Typhus Berlin	6. Moorseele
0·1	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	—	+	+	+	+	+	+
0·01	„	„	„	„	„	lebt	+	+	+	+	+	+
0·001	„	„	„	„	„	+	+	—	—	+	—	—
0·0001	„	„	„	—	„	+	+	—	—	—	—	—
0·00001	+	—	—	—	—	—						
							ohne Serum +	+	+	+	+	+

+ = todt innerhalb 24 Stunden. — = nicht geprüft.

Die Beobachtung des Peritonealexsudates nach **Pfeiffer**, die bei den Versuchen 1. (Psittacose), 3. (Schweinepest), 5. (Typhus) angestellt wurde, ergab im Allgemeinen entsprechende Resultate. Nur waren bei den mit Psittacoseserum ausgeführten Versuchen nach 1 bis 2 Stunden neben zahlreichen Granula häufig noch Bakterien sichtbar. Die mit normalem Kaninchenserum und Cultur behandelten Thiere zeigten nur ganz spärliche Granula und reichlich Bakterien; die Thiere, die nur Cultur ohne Serum erhalten hatten, wiesen grosse Mengen von Bakterien und keine Granula auf.

Tabelle II. Schutzversuche mit verschiedenen Sera gegen den Stamm Psittacosis.
($^1/_{10}$ Oese 1 tägige Agarcultur + Serum, in 1 ccm Bouillon intraperitoneal injicirt.)

Cubikcentimeter des Serums	Serum Paratyphus B (Kaninchen)	Typhusserum (Ziege)	Höchster polyvalentes Schweinepestserum (Pferd)	Normales Kaninchenserum	Höchster Diphtherieserum [1]
0·1	lebt	lebt	lebt	+	lebt
0·01	„	„	„	+	+
0·001	„	+	„	+	+
0·0001	+	+	+	+	—

ohne Serum: +

[1] An Stelle des normalen Kaninchenserums wurde zu den Controlversuchen gegenüber dem Höchster polyvalentem Schweinepestserum ein Höchster Diphtherieserum verwandt, da das Schweinepestserum ebenfalls vom Pferde stammt. Das Diphtherieserum dürfte dem Psittacosestamm gegenüber als normales Pferdeserum zu betrachten sein.

Bei dem ausserordentlich glatten Verlauf der Schutzversuche empfiehlt es sich vielleicht für die prüfungstechnische Bewerthung des Schweinepestserums diese Meerschweinchenversuche an Stelle der unregelmässiger ausfallenden Mäuseversuche zu setzen.

schweinchenversuche — eine derartige Wirkung nicht zu, wohl aber zeigt sich der Einfluss des Serums in der wesentlichen Verzögerung des Todes. Das Serum wirkt in dem einen Falle als Protectiv-, im anderen als Protractivserum.

Eine wiederholt in Zwischenräumen ausgeführte Entnahme von Bauchhöhlenexsudat aus den mit Cultur und Immunserum behandelten Meerschweinchen zeigte bei cultureller Untersuchung, dass die Bauchhöhle zu keiner Zeit nach der Injection völlig frei von Bakterien der eingeführten Art ist. Während innerhalb der ersten Stunden neben zahlreichen Granula auch mikroskopisch noch häufiger Bakterien gefunden wurden, liessen sich im weiteren Verlauf mikroskopisch Bakterien nicht mehr in dem spärlichen Exsudat nachweisen, wohl aber wuchs auf Ausstrichen stets eine Reihe von Hogcholeracolonieen in Reincultur. In den Tagen vor dem Tode nahm das Exsudat und die Bacillenmenge zu, und post mortem liessen sich in dem reichlich vorhandenen peritonitischen Exsudate grosse Mengen von Hogcholerabacillen in Reincultur nachweisen, auch das Herzblut enthielt unmittelbar nach dem Tode stets culturell nachweisbare Hogcholerabacillen: die Thiere starben unter dem Bilde der Allgemeininfection. Auffallender Weise liessen sich auch bei den mit Typhuscultur und Psittacoseserum behandelten Thieren meist während der ganzen Beobachtungszeit (15 Tage) Typhusbacillen, wenn auch sehr spärlich, aus der Bauchhöhle züchten, obwohl die Thiere dauernd völlig gesund blieben. Bei der nach 15 Tagen vorgenommenen Section waren keine Erscheinungen von Peritonitis nachzuweisen, ebenso waren die Milz und die sämmtlichen übrigen Organe mit Ausnahme der leicht geschwollenen Mesenterialdrüsen anscheinend normal. Die culturelle Prüfung des Netzes ergab aber wieder nicht unerhebliche Mengen lebender Typhusbacillen. Es geht aus diesen Versuchen jedenfalls hervor, dass auch in dem Falle, wo durch das Serum eine protective Wirkung zu Stande kommt, nicht eine Abtödtung sämmtlicher Bakterien in der Bauchhöhle stattzufinden braucht. Die persistirenden Typhusbacillen können sich unter Umständen noch längere Zeit im Organismus lebend erhalten, ohne aber zu einer Erkrankung des Thieres bezw. zur Allgemeininfection zu führen. Sowohl im Falle der protectiven wie der protractiven Wirkung lässt sich stets eine weitgehende Verminderung der Zahl der eingeführten Bacillen feststellen. Der in beiden Fällen so verschiedene Ausgang des Versuches hängt von dem Verhalten der übrig bleibenden Keime, bezw. von dem Verhalten des inficirten Organismus den Keimen gegenüber ab. Wir hoffen, auf diese Fragen noch späterhin zurückkommen zu können.

Kehren wir zu den Tabellen zurück, um die wechselseitige Beeinflussung der verschiedenen Sera und Stämme zu vergleichen. Das



Psittacoseserum hatte, wie erwähnt, in der geringen Menge von $^{1}/_{10\,000}$ ccm noch seine volle protractive Wirkung gegenüber dem homologen Stamm, wie bei Schweinepest und Mäusetyphus entfaltet. Auch die Wirkung auf Paratyphus B, die allerdings nur bis $^{1}/_{1000}$ ccm untersucht ist, dürfte nicht viel zurückstehen. Unsere Resultate lassen sich gut in Einklang bringen mit denen Bonhoff's [1], der die Schutzwirkung von Mäusetyphusserum gegenüber Mäusetyphus und Paratyphus B annähernd gleich fand. Der Stamm Aertryck konnte leider nicht untersucht werden, da seine Virulenz zu gering war, sich auch durch Thierpassagen nicht steigern liess. Während die bisher erwähnten Stämme, Psittacose, Schweinepest, Mäusetyphus, Paratyphus B sich also auch im Schutzversuch als eng zusammengehörig erwiesen, nimmt der Stamm Moorseele, der dem sog. Typus Gärtner der Enteritisbacillen angehört, auch hier wie im Agglutinationsversuch eine Sonderstellung ein. Einen gewissen Einfluss übt das Psittacoseserum allerdings auch ihm gegenüber aus, aber erst in 100 fach grösserer Menge als den anderen erwähnten Stämmen gegenüber zeigt sich die Verzögerung des Todes.

Wie bei der Wirkung des Psittacoseserums gegenüber den verschiedenen Stämmen der Hogcholeragruppe, zeigte sich deren nahe Verwandtschaft auch, als der Schutzwerth verschiedener anderer Sera der Gruppe auf den Psittacosestamm geprüft wurde (s. Tabelle II). Paratyphus B-Serum und polyvalentes Schweinepestserum vermochten beide in der noch recht erheblichen Verdünnung von $^{1}/_{1000}$ ccm der Psittacose-Infection gegenüber ihre verzögernde Wirkung zu äussern. Die sämmtlichen untersuchten Stämme der Hogcholeragruppe lassen also auch im Schutzversuch keine Unterschiede erkennen.

Sehr auffallend ist nun, dass Psittacoseserum auch gegen Typhus einen ebenso wirksamen, ja, was die Dauer des Erfolges betrifft, weit wirksameren Schutz auszuüben vermag, wie gegen die Glieder der Hogcholeragruppe (s. Tabelle I). War schon bei der Agglutinationsprüfung eine mässige Mitagglutination des Typhusstammes durch Psittacoseserum bemerkbar gewesen, so tritt hier bei der Prüfung des Schutzwerthes eine völlige quantitative Uebereinstimmung hervor (abgesehen von den Unterschieden, die sich in der „schützenden“ und in der „verzögernden“ Wirkung äussern). Aehnliche Resultate liegen kaum vor; im Gegentheil, bisher wurde im Allgemeinen der Schutzwirkung eine noch weitgehendere Specifität zugeschrieben, als der Agglutination. So übt nach Korte [2] ein durch Vorbehandlung mit Paratyphus B gewonnenes Immunserum, das diesem gegenüber einen nicht unerheblichen Schutz (oder nur eine Verzögerung?) gewährt, gegen Typhus keinerlei Mitschutz aus, obwohl

[1] A. a. O.
[2] A. a. O.

im Agglutinationsversuch Typhus deutlich mitagglutinirt wird. Die Resultate von Conradi, v. Drigalski und Jürgens[1] zeigen allerdings eine gewisse Annäherung an die unsrigen. Eine Quantität Paratyphusserum, die die Wirkung der 30 fach tödtlichen Dosis Paratyphusbacillen aufzuheben vermag, schützt annähernd auch gegen die einfach tödtliche Dosis Typhusbacillen. Immerhin ist auch hier noch ein erheblicher Unterschied der Wirksamkeit zu erkennen, während in unseren Versuchen die Wirkung gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen quantitativ gleich ist. Es zeigt sich eben auch hier wieder, noch mehr als in unseren Agglutinationsversuchen, die vielseitige Leistungsfähigkeit des Psittacoseserums, der eine entsprechende vielseitige Ausbildung des Receptorenapparates zu Grunde liegen muss. Man wird aus dieser einen Beobachtung mit einem ganz bestimmten Serum selbstverständlich nicht schliessen können, dass der Schutzversuch zur Differenzirung der Typhusbacillen von paratyphusartigen Bacillen ungeeignet sei, aber die eine Thatsache, dass unter Umständen ein hochwerthiges Immunserum im Schutzversuch zwei Stämme in quantitativ gleicher Weise beeinflusst, die nach ihrem culturellen Verhalten als durchaus verschieden anzusehen sind, beweist, wie vorsichtig man bei der Deutung der Immunitätsreactionen sein muss. In Bezug auf die Agglutinationsreaction sprechen in demselben Sinne die Erfahrungen de Nobele's, Korte's u. A., dass ein mit Bakterien des sog. Typus Gärtner (Moorseele, Bruges, Gand u. s. w.) hergestelltes Serum Typhus ebenso hoch oder höher agglutinirt wie den homologen Stamm. Eine innere Verwandtschaft erhellt zweifellos auch aus der Identität der Immunitätsreactionen, aber eine Verwandtschaft anderer Natur, als die, die wir gewohnt sind aus den morphologischen und culturellen Merkmalen zweier Bakterienarten zu erschliessen. Geben uns jene Aufschluss über die verwandtschaftlichen Beziehungen der einzelnen Bausteine der Mikroorganismen, so ermöglichen uns diese den Vergleich der vollendeten Gebäude.

Dass nahe Beziehungen zwischen den Typhusbacillen und der Hogcholera- oder Paratyphusgruppe bestehen, spricht sich — worauf besonders Zupnik[2] in treffender Weise aufmerksam macht — ebenso in den durch diese Bakterienarten hervorgerufenen klinischen und anatomischen Veränderungen, wie in manchen epidemiologischen Eigenschaften aus.

Es sei schliesslich noch auf einen bei Gelegenheit der Schutzversuche erhobenen Befund hingewiesen: Aus dem Rectalinhalt der intraperitoneal mit einem Hogcholerastamm inficirten und gleichzeitig mit Immunserum behandelten Meerschweinchen liess sich in vivo, etwa vom 4. Tage ab, reichlich Hogcholera züchten (auf Conradi-Drigalski-Platten fast in Rein-

[1] A. a. O.

[2] A. a. O.



cultur), ebenso aus dem mit allen Cautelen steril entnommenen Darminhalt eben verstorbener Thiere. Die Culturen wurden sicher identificirt. Rectalinhalt normaler Meerschweine lieferte ähnliche Keime nicht.

Dieser Nachweis gelang sowohl bei intraperitonealer Impfung von Meerschweinchen mit Psittacose, wie mit Schweinepest und Mäusetyphus (Paratyphus wurde nicht geprüft), auch häufig nach subcutaner Infection von Mäusen. Aehnliche Versuche mit dem Bacillus der Fleischvergiftung von Röhrsdorf haben bereits Gaffky und Paak[1] im Jahre 1886 ausgeführt. Nach subcutaner Infection liessen sich auch hier aus dem Darminhalt die eingeführten Bacillen wieder isoliren. v. Drigalski[2] erhielt das gleiche Resultat, als er Meerschweinchen mit dem 1903 aus einer Fleischvergiftungsepidemie in Neunkirchen isolirten Bacillus subcutan oder intraperitoneal inficirte. Salmon und Smith[3], die Erforscher der amerikanischen Schweinepest haben ferner festgestellt, dass nach subcutaner Infection von Schweinen mit Schweinepest sich eine Enteritis mit Schwellung des lymphatischen Apparates und zum Theil mit Geschwüren der Plaques und Follikel einstellt, die sie auf eine Infection durch Bakterien beziehen, die auf den Gallenwegen von der Leber aus in den Darm gelangt seien. Auch bei Meerschweinchen beobachteten sie häufiger enteritische Veränderungen nach Schweinepestinfection. Es scheint diese „Enterophilie", die Neigung, bei längerem Verweilen im Thierkörper in das Darmlumen überzugehen, danach eine Eigenthümlichkeit der ganzen Gruppe zu sein.

Zum Schluss seien die Ergebnisse unserer Untersuchungen kurz zusammengefasst:

1. Der von Nocard entdeckte Bacillus der Psittacose gehört nach seinem morphologischen und culturellen Verhalten und nach seinen Immunitätsreactionen zu der Gruppe der Hogcholera.

2. Als sicher zu dieser Gruppe gehörig sind bisher erwiesen die Bacillen der Schweinepest, des Mäusetyphus, der Psittacosis, des Paratyphus B, der Fleischvergiftungen (Typus Aertryck).

3. Die Fleischvergiftungserreger vom Typus Moorseele (zu dem die Stämme Bruges, Gand, Gärtner (?) u. A. gehören) nehmen nach dem Ausfall der Immunitätsreactionen eine Sonderstellung ein.

4. Das Psittacoseserum bewirkt im Schutzversuche den sämmtlichen Stämmen der Hogcholeragruppe gegenüber in gleicher Weise eine wesent-

[1] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1890. Bd. VI.

[2] A. a. O.

[3] Citirt nach E. Joest, Schweineseuche und Schweinepest. Kolle-Wassermann's *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.*



liche Verzögerung des Todes, aber keinen völligen Schutz. Die Protractivwirkung des Serums in diesem Falle steht im Gegensatz zu der Protectivwirkung, welche Immunsera gegenüber Typhusbacillen (und in anderen Fällen) entfalten.

5. Das Psittacoseserum wirkt sowohl im Agglutinations- wie im Schutzversuche vielseitiger als andere Sera dieser Gruppe. Es empfiehlt sich daher bei Versuchen zur Herstellung von Schutz- oder Heilserum gegen Angehörige dieser Gruppe den Psittacosestamm wegen seiner Receptorenüberlegenheit mit zu benutzen.

6. Das Psittacoseserum übt in derselben hohen Verdünnung wie gegenüber den Stämmen der Hogcholeragruppe auch dem Typhusbacillus gegenüber einen — hier völligen und dauernden — Schutz aus. Auch in diesem Falle lassen sich noch während längerer Zeit lebende Typhusbacillen im Organismus nachweisen, obwohl die Thiere völlig gesund bleiben.

7. Diese Thatsache beweist die nahe innere Verwandtschaft der Typhus- und dieser „Paratyphus"-Bacillen — wie man wohl auch die ganze Gruppe der Hogcholera bezeichnen darf — eine Verwandschaft, die sich auch in anatomischer, klinischer und epidemiologischer Hinsicht zeigt.



Tuberculose-Studien II.[1]

Von

A. Köppen
in Norden.

Die Toxine I.

So interessant und nothwendig die Analysirung und Charakterisirung des tuberculösen Giftes, wie sie v. Behring (1)[2] und seine Mitarbeiter (2) ausgeführt haben, auch ist — praktisch nicht minder wichtig erscheint die Erforschung desselben in der Form, in welcher es zur Resorption und zur Wirkung gelangt: Die chemische Untersuchung muss durch die biologische ergänzt werden. Das ist auch vielfach geschehen, in letzter Zeit besonders durch Maragliano (3) und seine Schule (4, 5). Seine Ausführungen gipfeln darin, dass bei der Tuberculose zwei verschiedene Giftarten wirksam seien, die Toxalbumine und die Toxoproteïde; erstere seien Ausscheidungsproducte der Tuberkelbacillen und als solche in der Culturflüssigkeit, letztere seien in den Leibern der Tuberkelbacillen enthalten und diesen durch geeignete Maassnahmen zu entziehen; erstere würden durch höhere Temperaturen zerstört, letztere seien hitzebeständig. Der grösste Unterschied bestehe aber in der verschiedenen pathologisch-physiologischen Wirkung, indem das Toxalbumin bei tuberculösen Meerschweinchen Schweiss erregen, die Temperatur herabsetzen und in genügender Dosis unter Collapserscheinungen den Tod herbeiführen solle; dagegen solle das Proteïd temperaturerhöhend wirken. Die temperaturherabsetzende Eigenschaft der ersten Giftclasse soll auch beim Menschen hervortreten. Auch Bronstein und Fraenkel[2] wieder-

[1] Theil I erschien als: „Methode für die Agglutinations-Prüfung der Tuberkelbacillen“ im *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903. Abth. I. O. Bd. XXXIV.

[2] Litteratur am Schluss der Arbeit.



holen in ihrer neuesten Veröffentlichung diese Angaben. Desgleichen Maragliano in einem neuerlichen und neuesten Vortrage (6, 10).

Es ist auffallend, dass diese experimentell gewonnenen Ergebnisse trotz ihrer augenscheinlichen Bedeutsamkeit bislang in Deutschland keine Aeusserung, weder in zustimmendem noch in abweisendem Sinne zu Folge gehabt haben. Dabei besteht, wie aus dem zusammenfassenden Bericht von v. Baumgarten (7) zu ersehen ist, über die Existenz der beiden Giftclassen keine Gewissheit, ebenso wenig über die verschiedenen Eigenschaften und abweichenden Wirkungen solcher. Aufklärung darüber schien mir dringend erwünscht; ich habe dieselbe zu erlangen versucht, sowohl durch Thierversuche, als auch durch Beobachtungen, welche anlässlich langjähriger therapeutischer Bestrebungen am tuberculösen Menschen gewonnen wurden. Alle nachstehend berichteten Injectionen des Menschen sind im Interesse der Immunisirung und Heilung Kranker angestellt worden.

Maragliano bediente sich für die Versuche mit seiner „Gruppe B" der durch Chamberlandfilter bakterienfrei gemachten und bei 30° eingeengten Culturbouillon; für seine „Gruppe A" der längere Zeit bei Siedetemperatur gehaltenen, auf dem Wasserbade eingeengten und dann erst filtrirten Gesammt-Cultur. Hiergegen ist einzuwenden, dass im ersteren Falle eine Verunreinigung des Toxins mit Pepton, Salzen, Glycerin, soweit diese Körper durch die Tuberkelbacillen nicht aufgezehrt sind — abgesehen vom Farbstoff — zugelassen wird; dass im zweiten Falle nicht allein das Toxin der Bacillenleiber, sondern auch das in die Bouillon übergegangene mit zur Verwendung gelangt. Maragliano rechtfertigt dies Vorgehen damit, dass seine Gruppe B durch Kochen zerstört werde, und dass es deshalb gleichgültig sei, ob die Bouillon mit verbraucht werde oder nicht. Wie ich aber späterhin zeigen werde, trifft diese Behauptung von Maragliano nicht zu. Es ist deshalb durchaus nothwendig, will man nicht von vornherein seine Untersuchungen fehlerhaft ausführen, dass man nach Möglichkeit die Gifte, sowohl ohne Verunreinigung, als auch ungemengt sich darstellt.

Ich bin so vorgegangen, dass ich die Gesammtcultur[1] auf ein feinstes

[1] Die Culturbouillon bestand aus:

	Später gewöhnlich aus:
10·0 Pepton,	15·0 Pepton,
10·0 Fleischextract,	20·0 Glycerin,
5·0 Kochsalz,	ad 1000·0 Pferdefleischbrühe
60·0 Glycerin,	nach v. Behring
ad 1000·0 Wasser.	

durch Natronlauge mit Phenolphthaleïn als Indicator neutralisirt.

Verwandt wurde die Cultur, sobald die Oberfläche vollkommen und gut bewachsen war, was nach 6 bis 8 Wochen in der Regel der Fall war.

Faltenfilter schüttete und das Filtrat durch eine Reichelkerze schickte. Die so von Bakterien befreite Bouillon wurde in die fünffache Menge absoluten Alkohols eingelassen und 24 Stunden stehen gelassen. Von dem entstandenen Bodensatz wurde die gelbe Flüssigkeit abgegossen bezw. abpipettirt und noch zwei Mal durch 60 procent. Alkohol ersetzt — aber in geringerer Menge. Schliesslich wurde der gesammte Bodensatz mit absolutem Alkohol aufgenommen und im Brütofen ad maximum getrocknet. Man erhält dann eine hellbraune spröde Masse, welche zu wenigstens 90 Proc. in warmem Wasser (37°) bei einer Concentration bis zu 3 Proc. löslich ist.[1] Die wässerige Lösung sieht hell bis bernsteingelb aus und ist klar. In physiologischer Kochsalzlösung ist die Löslichkeit der Gruppe eine geringere.

Um die Toxine der Gruppe A herzustellen — ich behalte die Bezeichnung von **Maragliano** zunächst bei — wurden die auf dem Filter verbliebenen Tuberkelbacillen so lange mit kaltem Wasser übergossen, bis dasselbe ungefärbt ablief. Dies hat den Zweck, einmal, jede Spur der noch anhaftenden Bouillon und damit das Toxin der Gruppe B, andermal alles Glycerin zu entfernen, welch' letzteres ein vollständiges Trocknen der Tuberkelbacillen hintanhalten würde. Das Trocknen der Tuberkelbacillen geschieht während mehrerer Tage unter öfterem Umwenden im Brütofen. Sind sie trocken, so bilden sie eine mehrweniger zusammenhängende Masse von eben gelb-grauer Färbung. Hiervon wird 1 ^{grm} abgewogen, mit 3 ^{ccm} warmer $33^1/_3$ procentiger Kalilauge übergossen und über Nacht im Brütschrank zugedeckt stehen gelassen. Darauf wird sie im Achatmörser sorgfältig zu einem durchaus gleichmässigen Brei verrieben, mit Wasser ad 100 ^{ccm} aufgeschwemmt und mindestens 2 Stunden lang im Dampfstrom gekocht. Das Dekokt wird zuerst durch ein feines Faltenfilter, dann durch eine Reichelkerze filtrirt. Das Filtrat ist kaum gelb gefärbt, klar und kommt nach Zusatz von 0·85 Procent Kochsalz zur Verwendung.

Hierzu ist zu bemerken, dass die Ein-Drittel-Kalilauge die Tuberkelbacillen durchfeuchten und besonders die Kittsubstanz durchdringen soll, um dadurch ein besseres und gründlicheres Verreiben der Tuberkelbacillen zu ermöglichen, was sonst nicht mehr angeht, wenn die Tuberkelbacillen einmal völlig trocken gewesen sind. Das Trocknen ist aber zur genauen Dosirung nothwendig. Diese starke Kalilauge greift die Eiweisssubstanz

[1] Auf eine peinlich genaue Angabe der Löslichkeitsverhältnisse muss ich verzichten, da ich beim Mangel einer chemischen Wage mit verhältnissmässig kleinen Mengen arbeitete. Diese Lücke liesse sich gelegentlich leicht ausfüllen. Später habe ich das Präcipitat einfach durch Fällung mit der doppelten Menge Alkohols gewonnen.



der Tuberkelbacillen nicht an, wovon man sich auch durch die mikroskopische Untersuchung überzeugen kann.

Man erhält aus einem Liter Cultur-Bouillon 4—5 grm des trockenen Präcipitats und etwas mehr trockene Bacillen, durchgängig ca. 1 grm Bacillen mehr als Präcipitat. In letzterem ist nach Maragliano auch die Toxingruppe A enthalten, weil von den im Laufe des Wachsthums der Cultur absterbenden Tuberkelbacillen ein Theil durch das Culturmedium ausgelaugt, und weil diese Substanz gleicher Weise durch Alkohol gefällt wird, wie die Gruppe B. Um nun einigermaassen ein Urtheil über die Grösse dieser etwaigen Beimengung zu bekommen, habe ich folgende Selbstversuche angestellt.

Versuch I. 0·5 der trockenen Tuberkelbacillen waren mit 25·0 einprocentiger Kalilauge zuerst verrieben und dann 24 Stunden lang im Brütschrank stehen gelassen worden. Von den sedimentirten Tuberkelbacillen wurde die Flüssigkeit abgegossen und durch eine Reichelkerze geschickt. Von dem Filtrat spritzte ich mir unter die Haut an der Streckseite des linken Unterarmes 0·15 ccm ein und zwar Nachmittags 6 Uhr.

Ausser dass die Stelle anfing, sich zu röthen, anzuschwellen, etwas zu schmerzen und wärmer zu werden, bemerkte ich vorläufig nichts. In der Nacht erwachte ich um 2 Uhr mit Kopfschmerzen, Abgeschlagenheit und Schmerzen in den Gliedern, mit Herzklopfen, kurzum mit starkem Krankheitsgefühl, Temperatur 36·5°. Die Beschwerden steigerten sich in den nächsten 2 Stunden noch bedeutend, nach Art eines heftigen Influenza-Anfalles. Die Temperatur stieg auf 37·3°. Damit war die Höhe erreicht; nach zwei weiteren Stunden betrug die Temperatur 36·3°, die Beschwerden liessen etwas nach, es stellte sich ein leichter Schweissausbruch ein und darnach Schlaf.

An demselben, d. i. dem dem Injectionstage folgenden Morgen bestand noch heftiger dumpfer Kopfschmerz, höchstes Unlustgefühl, starke Abgeschlagenheit und Müdigkeit in allen Gliedern, so dass ich mich die meiste Zeit liegend verhalten musste, verminderter Appetit. Im Morgenurin kein Eiweiss, kein Diazo.

Die sämmtlichen Allgemeinerscheinungen nahmen im Laufe der nächsten Tage langsam ab, so dass sie nach einer Woche verschwunden waren. Die ersten 3 Tage bestand noch Unwohlsein, die folgenden Tage bis Ende der Woche waren nur noch durch Müdigkeit hervorstechend. Die entzündliche Geschwulst um die Injectionsstelle hatte am nächsten Tage eine Grösse von ca. 10 cm im Längendurchmesser erreicht und lag mehr als 1 cm dick auf, sie war braunroth, schmerzte heftig und fühlte sich heiss an. Die Entzündung ging dann in den nächsten Tagen bei andauerndem Juckreiz zurück, doch währte es noch mindestens 14 Tage, dass die Stelle die Aufmerksamkeit nicht mehr reizte. Unter Abschuppung erfolgte die Restitutio ad integrum nach einer weiteren Woche.

Versuch II wurde, damit er nicht durch den ersten beeinflusst werde, etwa 4 Monate später angestellt. Von derselben Cultur wurden wiederum



0·5 Tuberkelbacillen genommen, mit 25·0 Aq. dest. übergossen und nach längerem Durchziehen zu einem Brei zerdrückt. Nachdem die Aufschwemmung 24 Stunden im Brütofen verweilt hatte, wurde die Flüssigkeit von den Tuberkelbacillen abgegossen und durch eine Reichelkerze filtrirt. Von dem Filtrat injicirte ich mir Vormittags 12 Uhr etwas höher als das erste Mal gleicher Weise reichlich 0·15 ccm.

Auch dies Mal schwoll die Injectionsstelle in fast gleicher Ausdehnung wie das erste Mal an; sie schmerzte aber lange nicht in dem Maasse wie früher, röthete sich auch nicht so stark und wurde nicht so heiss und hoch. Das Befinden blieb bis Nachts 10 Uhr, trotz einer vorherigen $1^1/_2$ stündigen, anstrengenden Fusstour ungestört. Dann wurde der Kopf etwas eingenommen, und der Schlaf wollte nicht kommen. Dies dauerte aber nicht lange, so dass ich noch vor 12 Uhr eingeschlafen war.

Am anderen Tage bestand noch etwas Mattigkeit, etwas Eingenommensein des Kopfes. Am zweiten Tage waren diese Erscheinungen geschwunden. Die örtliche Stelle machte sich am folgenden Tage spontan nur wenig bemerkbar, die entzündliche Reaction hatte schon nachgelassen. Auch hier erfolgte die Restitution unter Abschuppung und zwar in ca. einer Woche.

Von jedem Tuberkelbacillenbrei wurden mit Kochsalzlösung Aufschwemmungen hergestellt und davon je einem Meerschweinchen eine Pravazspritze in die Jugularvene eingespritzt. Keines der beiden Thiere zeigte nach sechs Wochen bei der Obduction irgend welche tuberculöse Organveränderungen.

Es kann auf Grund dieser beiden Parallelversuche nicht schwer fallen, den Antheil, welchen die Tuberkelbacillen durch Auslaugung an dem Toxininhalt der Culturbouillon nehmen, richtig abzuschätzen. Zunächst vergegenwärtige man sich das künstliche Wachsthum der Tuberkelbacillen auf Bouillon. Die auf deren Oberfläche gebrachte Aussaat wächst ebendaselbst weiter, so zwar, dass sie nach allen Seiten hin eine erst dünne, späterhin dickere Haut bildet, welche mit der Zunahme der Einzelindividuen an dem Rande des Glases hochkriecht und sich faltet. Diese Faltung ist die natürliche Folge davon, dass die jüngste Tuberkelbacillen-Generation für ihr Wachsthum und für ihre Vermehrung der Nahrung bedarf, welche sie nur genügend direct an der Oberfläche der Bouillon findet; und deshalb bildet sie die unterste Schicht, während die älteren Generationen als oberste Schicht zu treffen sind, welche bei längerer Culturdauer soweit in ihrer Lebensfähigkeit geschädigt sind, dass ein Weiterzüchten meistens misslingt. Daraus geht hervor, dass todte Bacillen mit der Bouillon kaum mehr in Berührung kommen, vorausgesetzt natürlich, dass das Culturgefäss nicht übermässig bewegt wird, wodurch die Haut überspült oder gar auf den Boden des Gefässes versenkt werden könnte. Bei dieser Sachlage kann von einem Auslaugen todter Bacillen gar keine Rede sein. Von den lebenden aber muss unbedingt angenommen werden, dass sie sich nicht auslaugen lassen, da sie dadurch eines integrirenden Bestandtheiles ihrer Körpersubstanz verlustig gehen würden, was sich mit einer



Weiterentwickelung nicht verträgt. Hier ist wohl zu unterscheiden, ob ein Mikroorganismus von vornherein weniger Toxin aufspeichert, also weniger gifthaltig ist, oder ob ihm das mit seinem Leibe verbundene Toxin hinterher entzogen werden soll. Dass Tuberkelbacillen in ihrer Virulenz Unterschiede aufweisen, ist bestimmt; der Virulenz-Unterschied kommt aber nicht dadurch zu Stande, dass die Bacillen an Gift hinterher einbüssen, sondern dadurch, dass sie anderen Existenzbedingungen ausgesetzt gewesen sind und so in ihren biologischen Eigenschaften sich geändert haben. Wie die beiden an die Selbstversuche angegliederten Thierversuche zeigen, hat die Giftentziehung bei den Tuberkelbacillen deren Tod zur Folge.

Bei dem zweiten Versuche waren die vorher getrockneten — zum mindesten schon lebensschwachen Bacillen in indifferenter Flüssigkeit unter zwar geringem aber doch immerhin merkbarem Drucke vertheilt. Die so ihnen entzogene Toxinmenge reichte, wie die Wirkung der Injection zeigte, bei weitem nicht an diejenige des ersten Versuches heran, bei welchem die Bacillen sowohl mechanisch als auch chemisch stark beeinflusst waren. Wenn man nun die stufenweise Einwirkung auf beide Mal zum Absterben kommende Bacillen betrachtet, so erhält man einen genügenden Anhaltspunkt dafür, was dazu gehört, um den Tuberkelbacillen eine einigermaassen merkbare Menge Toxin zu entziehen; wenn man dann hiermit den Einfluss der Bouillon auf die Tuberkelbacillencultur vergleicht, ferner die Menge der Flüssigkeit zu der Menge der Tuberkelbacillen (im Versuch 50:1, im Culturgefäss 200:1), so muss man zu dem Schluss kommen, dass eine Auslaugung der Tuberkelbacillen durch die Culturbouillon nicht stattfindet, dass mithin Toxin der Gruppe A in der Bouillon so gut wie nicht vorhanden ist.

Die Wirkung der Toxingruppe B auf die Körpertemperatur kann aus den nachfolgenden Curven 1*a* und 1*b* ersehen werden.

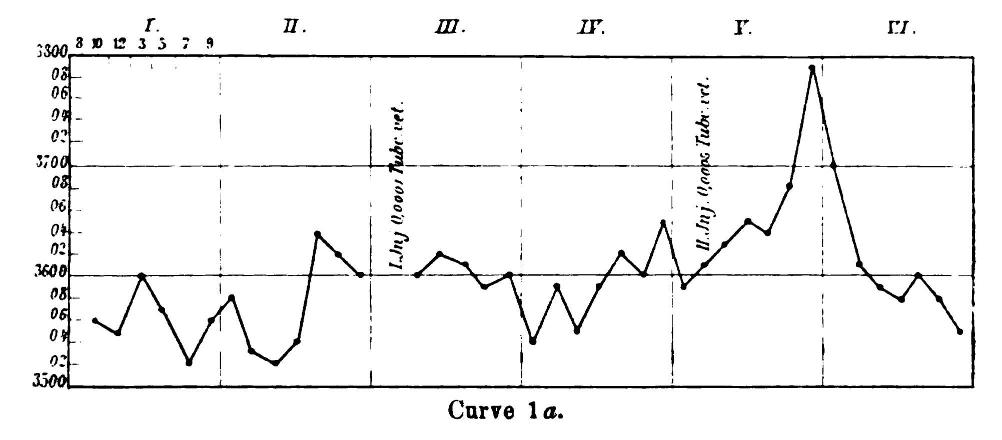
Es handelte sich um eine an Tuberculose der Haut und der Drüsen, sowie an Lupus des Gesichts leidende Kranke, bei welcher zur Feststellung des constitutionellen Factors[1] zunächst zwei Probeinjectionen mit dem alten Tuberculin gemacht waren und zwar das erste Mal 0·0001 Tubc. vet., das zweite Mal 0·0005 Tubc. vet. Das Ergebniss zeigt die Curve 1*a*. Nach Verlauf von zehn völlig fieberfreien Tagen wurde eine dritte, die erste therapeutische Injection gemacht mit 0·001 der festen Substanz der Gruppe B, deren Resultat durch die Curve 1*b* angezeigt wird.[2] Hieraus

[1] Vgl. Köppen, Die tuberculöse Constitution. Vortrag, gehalten in der Abth. für Kinderheilkunde a. d. Versammlung deutscher Naturforscher u. Aerzte in Cassel 1903. *Verhandl. der Gesellschaft für Kinderheilkunde.* Wiesbaden 1904.

[2] Ich könnte noch eine ganze Reihe derartiger Curven beibringen.

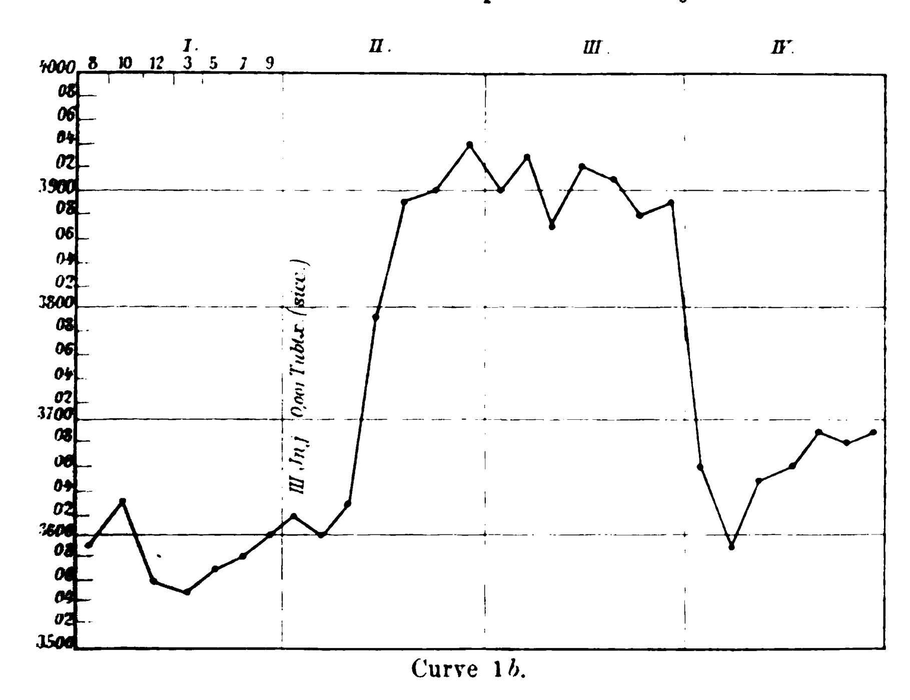
geht in striktem Gegensatz zu der Angabe von Maragliano hervor, dass das Toxin der Gruppe B temperaturerhöhende Eigenschaft besitzt.

Es liegt die Frage nahe, wodurch das falsche Ergebniss bei Maragliano veranlasst ist. Ein Mal könnte es sein, dass Jener so grosse Dosen



Curve 1*a*.

injicirt hat, dass sich bald hernach ein Collaps angeschlossen, dessen erniedrigte Temperatur ihm das falsche Resultat vorgetäuscht hat. Andermal könnte bei vorher erhöhter Temperatur die Injection eine Immuni-

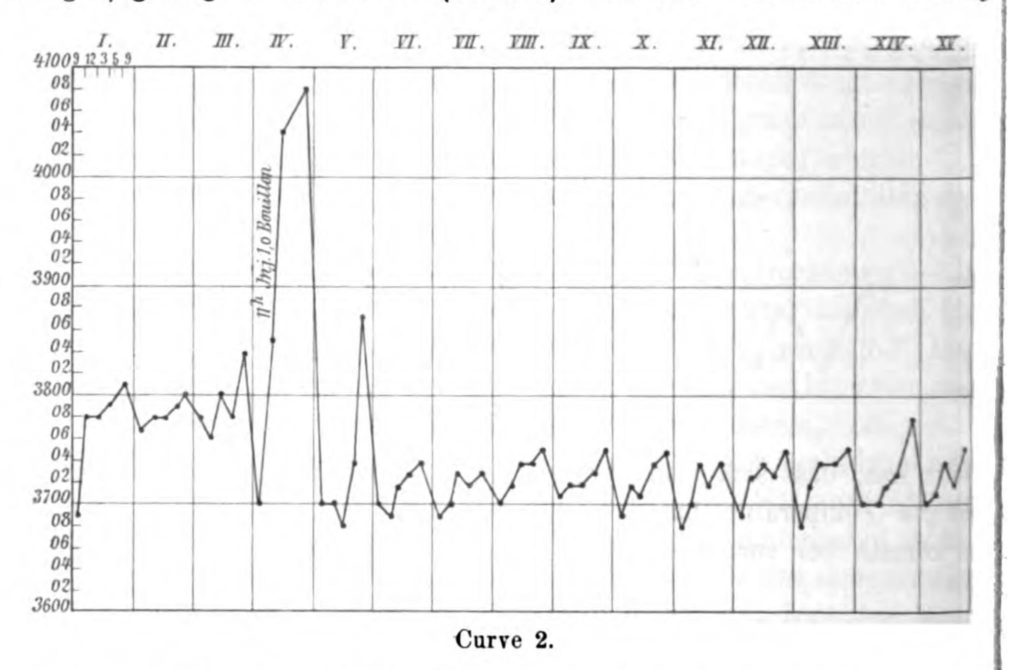


Curve 1*b*.

sirung des Organismus unter folgendem Fieberfall bewirkt haben; die unmittelbare fieberhafte Reaction wurde übersehen, der Temperaturabfall wurde falsch be- und verwerthet. Für einen solchen Fall möchte ich ein Beispiel beibringen.

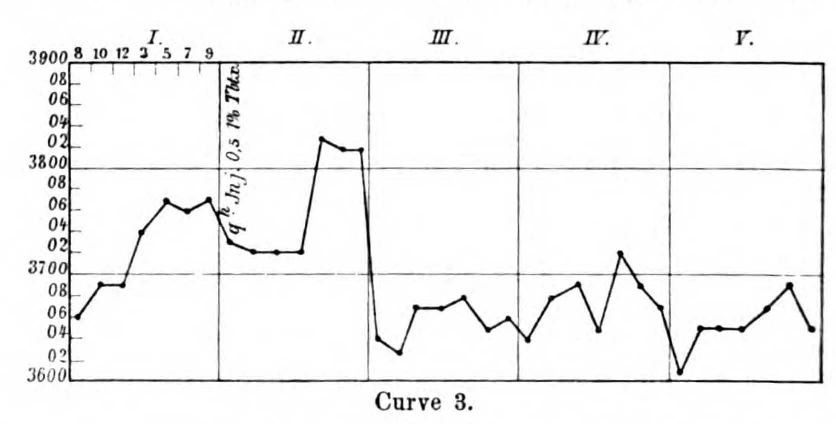


Einem an Lungentuberculose leidenden Patienten wurde 1·0 der filtrirten und mit 0·5 Procent Carbolsäure versetzten Bouillon injicirt. Der Versuch, durch eine kräftige Reaction die Temperatur zur Norm zu bringen, gelang wie ersichtlich (Curve 2). Da eine bedeutende Besserung



Curve 2.

des Allgemeinbefindens hierdurch erzielt wurde, so ist der etwaige Einwand, dass es sich um Collaps gehandelt habe, hinfällig. Nun kann aber eine solche Wirkung nicht als eigenthümlich für ein Bakterientoxin gelten; denn sie hängt ganz allein von dem Organismus und dessen



Curve 3.

Reactionsfähigkeit ab und kommt gleicher Weise den Toxinen anderer Bakterien auch zu; ebenfalls auch den verschiedenen Toxinen derselben Bakterienart. Als Beispiel diene das Tuberkelbacillen-Toxin der Gruppe A in der Curve 3.



Es handelt sich in diesem Fall um einen jungen Menschen mit einer subacut gewordenen Hüftgelenkentzündung, bei dem gelegentlich, insbesondere nach ausgedehnteren Bewegungen Temperaturerhöhung auftrat, wie eine solche der Anfangstheil der Curve aufweist. Injicirt wurde 0·5 einer 2stündigen Abkochung von 1·0 Tuberkelbacillen in 100·0 Aq. Es ist augenscheinlich, dass der Organismus durch die Injection zu einer kräftigen immunisatorischen Reaction angeregt wurde, deren Erfolg die Verdrängung des Fiebers war.

Nachdem durch vorstehende Versuche bewiesen worden, dass die Angaben **Maragliano's** über die entgegengesetzte Wirkung seiner beiden Toxingruppen auf die Temperatur nicht zutreffend sind, schien es weiterhin nothwendig, zu prüfen, wie es mit der Behauptung desselben Autors steht, dass die Gruppe B höhere Temperaturen nicht erträgt, dass Siedehitze die Wirksamkeit dieser Gruppe aufhebt. Die Gruppe A, welche durch Kochen gewonnen wird, bleibt eo ipso ausser Betracht.

Zunächst prüfte ich den Einfluss der erhöhten Temperatur auf die Wirksamkeit der Gruppe B an Kaninchen und Meerschweinchen, indem ich das eine Mal das unbehandelte, das andere Mal das auf 65° und 100° erhitzte Toxin einverleibte. Ich bin nach zahlreichen Versuchen zu der Einsicht gekommen, dass diese Thiere sich zu derartigen subtilen Versuchen nicht eignen, da Schwankungen des Körpergewichts, welche allein den Maassstab für die Giftwirkung abgeben können, so wie so schon in einem Maasse vorhanden sind, dass daraus Unterschiede in der Wirkung der Gifte nicht merkbar werden.

Deshalb kamen mir einige Beobachtungen zu statten, welche ich anlässlich therapeutischer Maassnahmen bei dem letzten Patienten gewonnen hatte. Injicirt wurde bei der

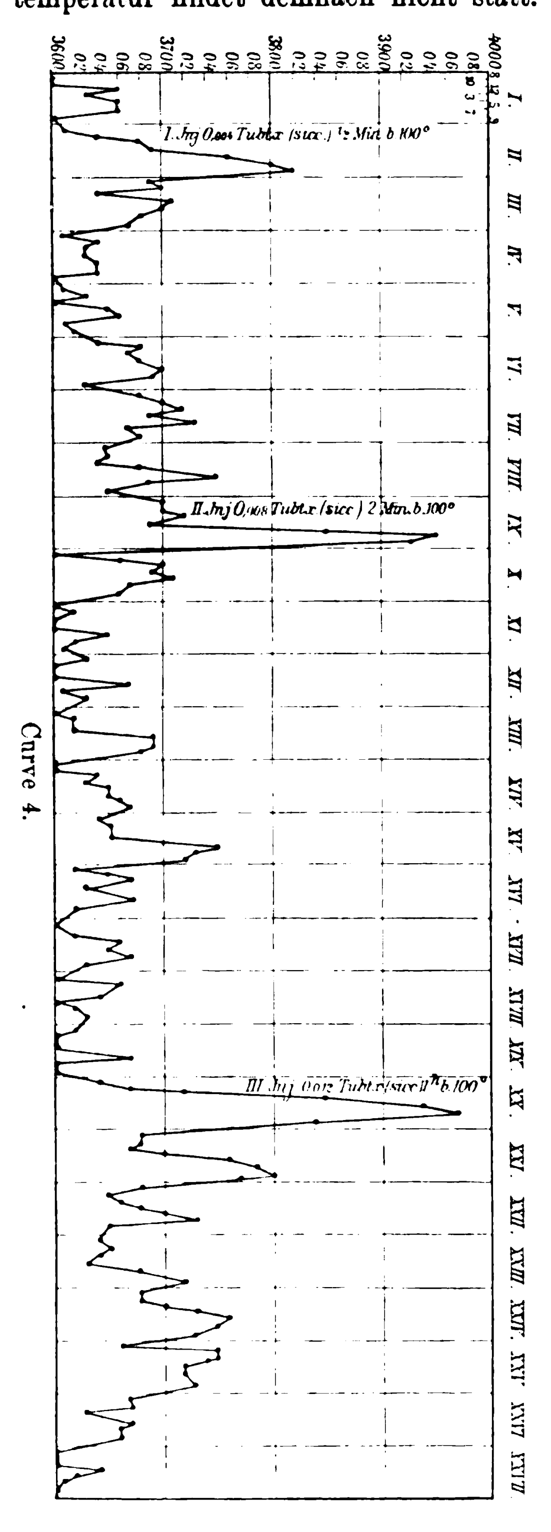
I. Injection 0·004 feste Substanz der B-Gruppe, welche kurz aufgekocht war;
II. „ 0·008 Toxin, welches 2 Minuten lang über der Flamme gekocht war;
III. „ 0·012 Toxin, welches 2 Stunden lang im strömenden Dampfe gekocht war.

Die Curve 4 zeigt in allen Fällen eine deutliche Reaction.

Um jeden Zweifel an der Beweiskraft dieser Beobachtungen von vornherein abzuschneiden, sei hinzugefügt, dass der betreffende Patient gegen eine recht hohe Dosis des A-Toxins bereits immunisirt war, bevor er die Injectionen mit dem B-Toxin erhielt. Wenn also auch eine ziemlich erhebliche Beimengung von A-Toxin zu dem B-Toxin vorhanden gewesen wäre, so hätte dieser Umstand doch auf die Schlussfolgerung keinen



Einfluss ausüben können. Eine Zerstörung des B-Toxins durch Siedetemperatur findet demnach nicht statt. Ob nicht eine Veränderung eintritt, soll jetzt nicht untersucht werden, da es zunächst darauf ankommt, zu zeigen, dass die Versuchsanordnung Maragliano's falsch ist, dass sie zu unrichtigen Ergebnissen führen muss, wenn er annimmt, durch Kochen das B-Toxin aus der Gesammtcultur eliminirt zu haben.


Curve 4.

Die bisherigen Ergebnisse haben für die Verschiedenheit der beiden Toxingruppen den Beweis nicht erbracht. Vielleicht ist die chemische Untersuchung dazu im Stande.

In der Litteratur findet man die Angabe, dass die Toxingruppe B, welche ich nach v. Behring nunmehr Tubtx. benennen will, den Albumosen; die Gruppe A dagegen, welche mit Tbtx. zu bezeichnen ist, den Proteïden angehöre. Die von mir angestellten chemischen Reactionen ergaben Folgendes:

Es wurde eine 1 procentige wässerige Lösung des Präcipitats und eine mehrstündige Abkochung von 1·0 Tb. in Wasser hergestellt. Die Lösungen wurden klar filtrirt; erstere war leicht gelblich, letztere anscheinend farblos.

Was von der letzteren Lösung wegen der Herstellung selbstverständlich ist, gilt auch von der ersteren: Beide können, ohne zu coaguliren, gekocht werden; und was sich ohne Weiteres aus demselben Grunde von der ersteren

ergiebt, trifft auch bei der letzteren zu: Sie werden beide durch Alkohol gefällt. Ferner zeigten beide die Xanthoproteïn- und die Millon'sche Reaction; dagegen war die Biuretreaction beiderseits unsicher. Mit Salpetersäure, Essigsäure, Essigsäure und Ferrocyankalium trat in der Kälte ein Niederschlag auf, welcher sich aber in der Wärme nicht vollständig löste. Dagegen löste sich der mit 30 Procent Essigsäure entstandene Niederschlag, wenn die Mischung mit Chlornatrium gesättigt wurde. Pikrinsäure, Sublimat und schwefelsaures Ammon fällten die Toxine. Salzsäure und Schwefelsäure gaben in der Kälte keinen Niederschlag. Tubtx. reducirte Kupferoxydhydrat nach Art der Pentosereaction, verlor diese Eigenschaft aber nach Aufkochen.

Gelatine wurde von keinem der beiden Toxine verflüssigt.

Es ist nicht angängig, aus dem Umstand, dass das Tubtx. reducirende Eigenschaft besitzt, auf eine Verschiedenheit beider Gruppen zu schliessen; denn dies Vermögen geht mit dem Kochen verloren, und das Tbtx. ist durch Kochen gewonnen. Die übrigen Reactionen aber fallen bei beiden Körpern gleichmässig aus; einige Reactionen haben sie mit den Proteosen gemeinsam, in anderen weichen sie wieder davon ab; ausserdem beweisen sie sich als Nicht-Peptone. Das Tubtx. lässt sich deshalb nicht als Proteose (Albumose) ansprechen, sondern beide Gruppen müssen den Proteïden zugerechnet werden.

Da auch diese Untersuchung einen Unterschied der beiden Toxingruppen nicht hatte nachweisen können, so habe ich den biologischen Versuch, welcher sich auf die Präcipitation körperfremden Eiweisses durch das Blutserum des vorbehandelten Organismus stützt, unternommen, indem Thieren, in erster Linie Kaninchen, von beiden Toxinen einverleibt und nachher das Blutserum auf seine fällende Eigenschaft untersucht wurde. Ich variirte die Versuche in der mannigfaltigsten Weise. Bald injicirte ich eine einzelne grosse Dosis, bald eine Reihe kleinerer oder grösserer Dosen; ich entnahm das Blut zu verschiedenen Zeiten, das eine Mal, wenn das frühere Körpergewicht wieder erreicht war, das andere Mal früher und noch ein anderes Mal eine Zeit lang nachher: Trotz alledem gelang es mir in keinem Falle, eine unanfechtbare Reaction zu erzielen; glaubte ich einmal, ein positives Resultat vor mir zu haben, und wiederholte ich den Versuch, so erhielt ich ein anderes Resultat: Kurzum, es war unmöglich, auf diesem Wege zum Ziel zu kommen.

Mir erscheint dieser Ausfall nicht mehr befremdlich. Es ist längst bekannt, dass nicht alle Eiweisskörper schlechtweg die biochemische Reaction geben, sondern dass es genuine Eiweisskörper sein müssen; so sind Peptone nach verschiedenen Untersuchungen von anderer Seite (z. B. v. **Dungern**) nicht im Stande, die Reaction herbeizuführen. Die ultra-



mikroskopischen Untersuchungen, welche in den Peptonlösungen körperliche Elemente im Gegensatz zu genuinem Eiweiss vermissen liessen, können für die Erklärung jener Thatsache vielleicht einen Anhaltspunkt liefern (Raehlmann, Römer).

Schliesslich habe ich die Temperaturtabellen meiner Tuberculosepatienten durchgesehen, ob nicht aus ihnen eine Verschiedenheit der beiden Toxingruppen zu erkennen wäre. Diese Verschiedenheit könnte bei der gleichen, temperaturerhöhenden Eigenschaft der beiden Toxine nur so hervortreten, dass das eine Toxin auch dann noch die Temperatur erhöht, wenn der Organismus gegen eine mindestens gleiche Dosis des anderen Toxins immunisirt worden, also auf dieselbe Dosis des anderen Toxins nicht mehr durch Temperatursteigerung reagiren würde.

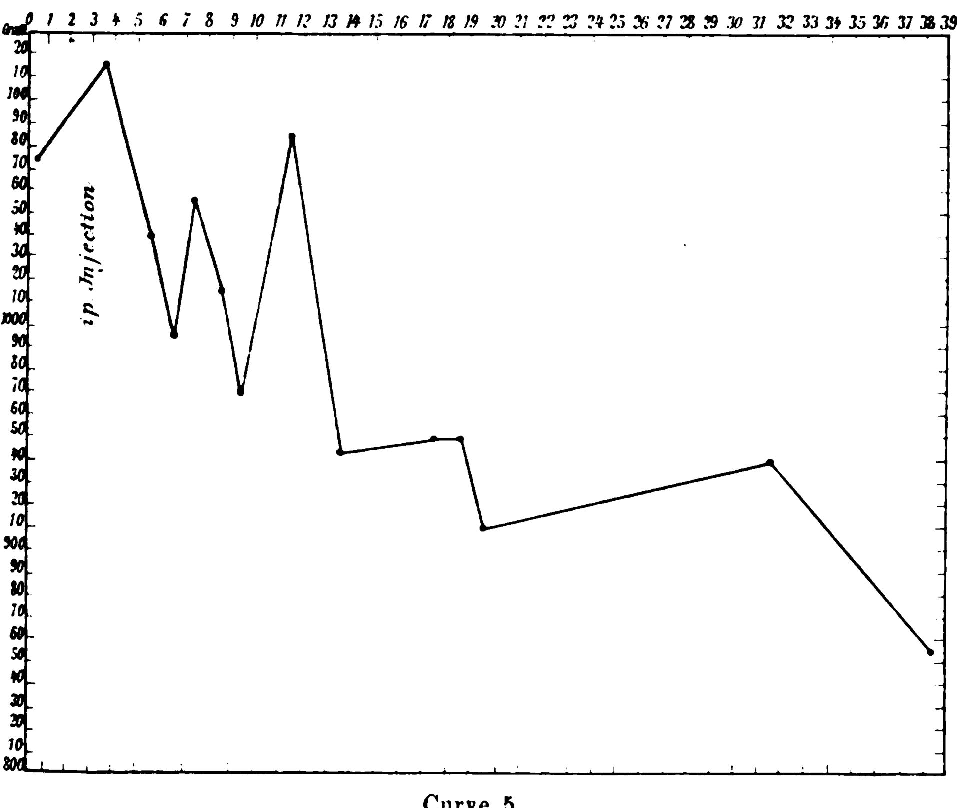
Bei dieser Untersuchung würde man aber zu einem falschen Ergebniss kommen, wenn man gleiche Dosen beider Toxine zu Grunde legen würde. Denn, wenn auch beide Toxine die gleiche, nämlich temperaturerhöhende Wirkung haben, so ist damit noch nicht bewiesen oder gesagt, dass sie diese Eigenschaft auch in gleichem Maasse besitzen, dass ein Gewichtstheil des einen Toxins dieselbe Temperaturerhöhung, d. h. die Erhöhung der Temperatur um gleich viel Grade bewirkt wie dieselbe Gewichtsmenge des anderen Toxins. In den mitgetheilten Versuchen und Beobachtungen ist bei dem Tbtx. überhaupt stets nur von der ursprünglichen festen Substanz die Rede gewesen, d. h. von der Gewichtsmenge Tuberkelbacillen, welche als Ausgangsmaterial gedient hat. Dass Tuberkelbacillen und Toxin aber nicht gleichwerthig sind, dass vielmehr in den Tuberkelbacillenleibern viele Substanzen, u. a. ca. 39 Procent Fettsubstanz, vorhanden sind, welche nicht mit dem Toxin identificirt werden dürfen, braucht nicht weiter auseinandergesetzt zu werden. Ausserdem aber lässt sich zeigen, dass die Tuberkelbacillen durch Kochen keineswegs an Toxin erschöpft werden können.

1·0 Tuberkelbacillen wurden auf die von mir (vgl. Fussnote zur Ueberschrift) angegebene Weise verseift; die Masse (Tuberkelbacillenseife) wurde mit Wasser auf 100·0 aufgefüllt. Nach zweistündigem Kochen wurden die Tuberkelbacillen von der Flüssigkeit durch wiederholtes Durchgiessen durch ein hartes Filter getrennt, nochmals in 100·0 stark alkalischen Wassers aufgeschwemmt und im Papin'schen Dampftopf 10 Stunden gekocht. Nach diesem wurden die abermals von der Flüssigkeit befreiten Bacillen mit 100·0 Wasser aufgeschwemmt, 2 Stunden gekocht und wiederum von der Flüssigkeit getrennt. Durch diese wiederholten Manipulationen verlieren die Bacillen sehr an Gewicht und Zahl, während das Volumen, wenigstens so lange sie feucht gehalten werden, ein grösseres geworden ist. Dies hat seinen Grund darin, dass sie, wie das Mikroskop zeigt, schwammartig aufgelockert sind.



Von diesen übrig gebliebenen Bacillen wurden so viele, dass sie an Zahl ungefähr die Hälfte der ursprünglich vorhandenen ausmachen mochten, einem in bester Gesundheit stehenden Kaninchen intraperitoneal eingespritzt.

Wenn man eine ebenso grosse Menge sterilisirten Aleuronatmehls einem Kaninchen intraperitoneal einverleibt, so bleibt das Thier am Leben, nachdem es nur am nächsten Tage als Folge der durch das Trauma herabgesetzten Fresslust einen Gewichtsverlust hat erkennen lassen, ohne dass eine exsudative Entzündung in der Bauchhöhle aufträte (8). Hier aber ging das Thier am 45. Tage unter fortgesetzter, allerdings sprungweiser Abmagerung zu Grunde (Curve 5). Aus der Obduction sei angeführt, dass



Curve 5.

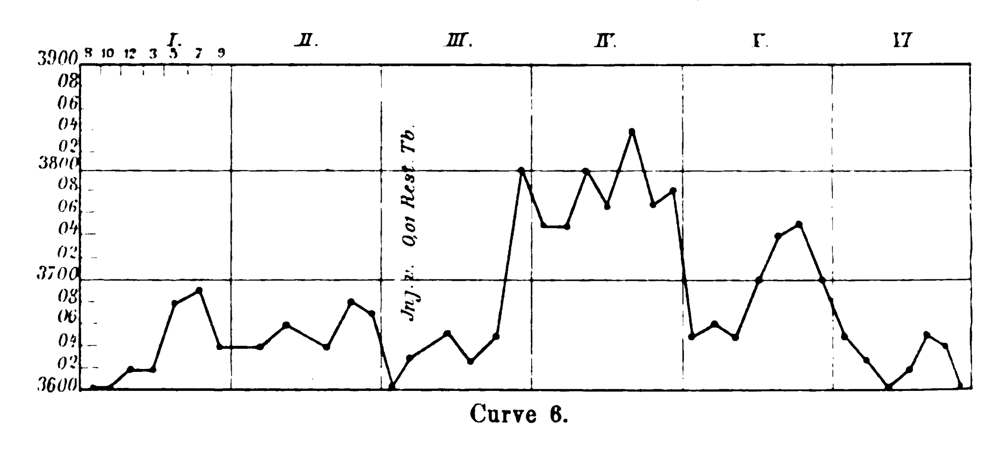
kein Ascites vorhanden war; das Peritoneum parietale und viscerale injicirt und mit vielen kleinen und grösseren Knötchen besetzt; desgleichen das Mesenterium und das Netz; dieses aufgerollt. Randzone der Nieren dunkel; mit blutigen Punkten und Streifen. Lunge blutig gefleckt.

Nicht minder deutlich geht die Retention von Toxin in den Tuberkelbacillen trotz eingreifendster Behandlung aus folgender Beobachtung hervor.

Dem schon vorhin genannten, an Hüftgelenkstuberculose leidenden Patienten wurde, nachdem er bereits gegen die anderen tuberculösen Toxine immunisirt worden war, 1 ccm einer 1 procentigen wässerigen Aufschwemmung der wie oben behandelten Bacillen subcutan einverleibt. Die darauf erfolgte Reaction zeigt die Curve 6.

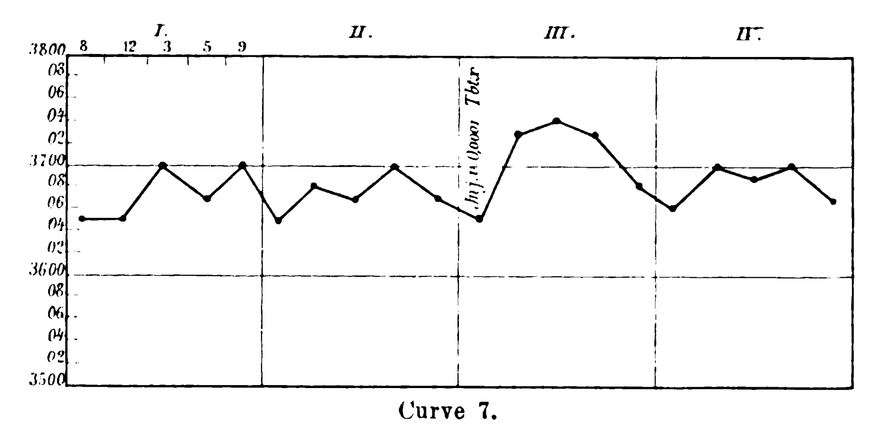
 

Nach dem Gesagten kam es demnach darauf an, zu prüfen, ob nach Immunisirung mit dem einen Toxin die Einverleibung des anderen Toxins in höchstens gleichwirkender Dosis von Neuem eine Temperatursteigerung veranlassen würde; je kleiner aber im Vergleich zu der ersteren die zweite Toxindosis sein würde, welche eine Temperaturerhöhung auslöste, desto auffälliger musste das Ergebniss sein.



Curve 6.

Zunächst galt es festzustellen, welche Gaben von beiden Toxinen als gleichwirkend anzusehen waren. Ich habe nun bereits früher angegeben (8), dass das auf die geschilderte Art hergestellte Tbtx. (auf die ursprüngliche feste Substanz berechnet) eine ca. 50 fach stärkere temperaturerhöhende Wirkung ausübt, als das Tubtx. Zum Vergleiche dienen die Curven 7



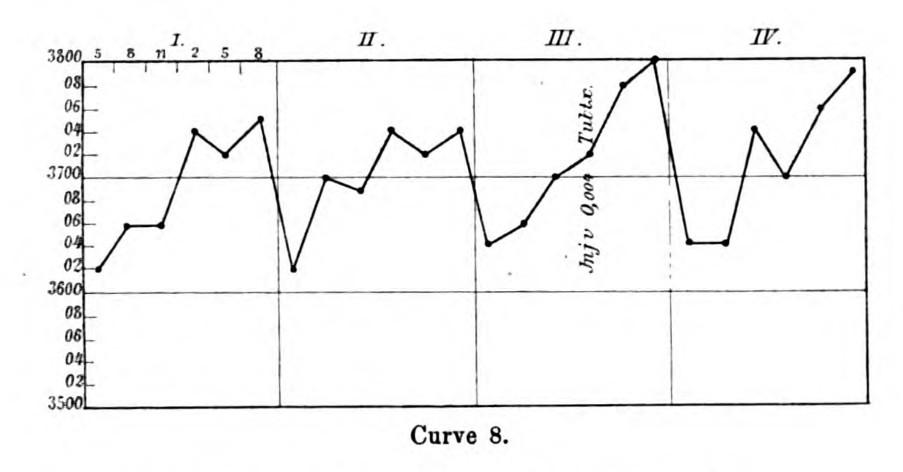
Curve 7.

und 8. Injicirt war im ersten Fall 0·0001 Tbtx., im zweiten 0·004 Tubtx. und beide Mal ging die Temperatur um etwa $^1/_2$ Grad in die Höhe.

Die Schwierigkeit solcher Feststellungen liegt darin, dass der constitutionelle Factor bei den Personen möglichst derselbe sein muss, wenn, wie hier, verschiedene Personen in Betracht kommen; hat man es aber mit derselben Person zu thun, so müssen die Injectionen zur Vermeidung

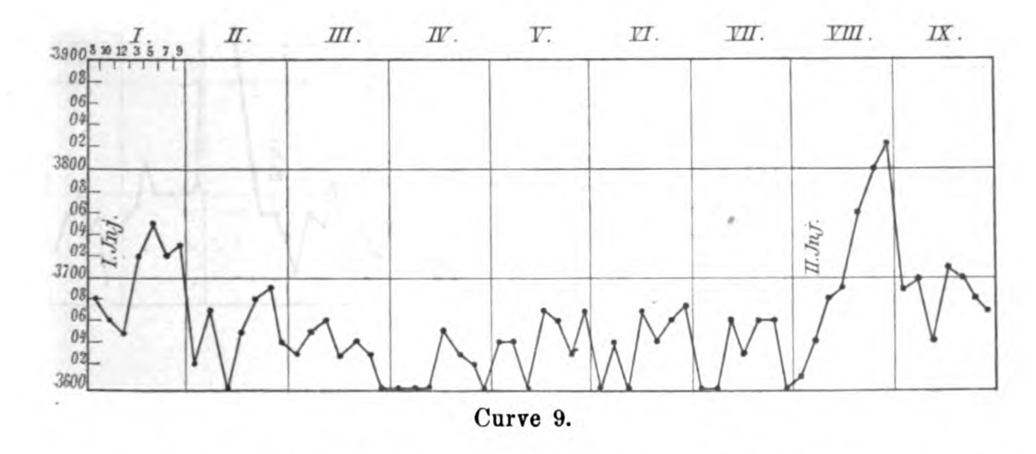


einer gegenseitigen Beeinflussung, directer oder indirecter Art, soweit aus einander gelegt werden, dass sich inzwischen der constitutionelle Factor bedeutend verschoben haben kann. Immerhin darf man soviel nach zahlreichen Beobachtungen sagen, dass das Tbtx. in der angegebenen Gabe um ein Vielfaches in Bezug auf die temperaturerhöhende Eigenschaft wirksamer ist als das Tubtx.



Curve 8.

Unter dieser Voraussetzung sei die Curve 9 betrachtet.

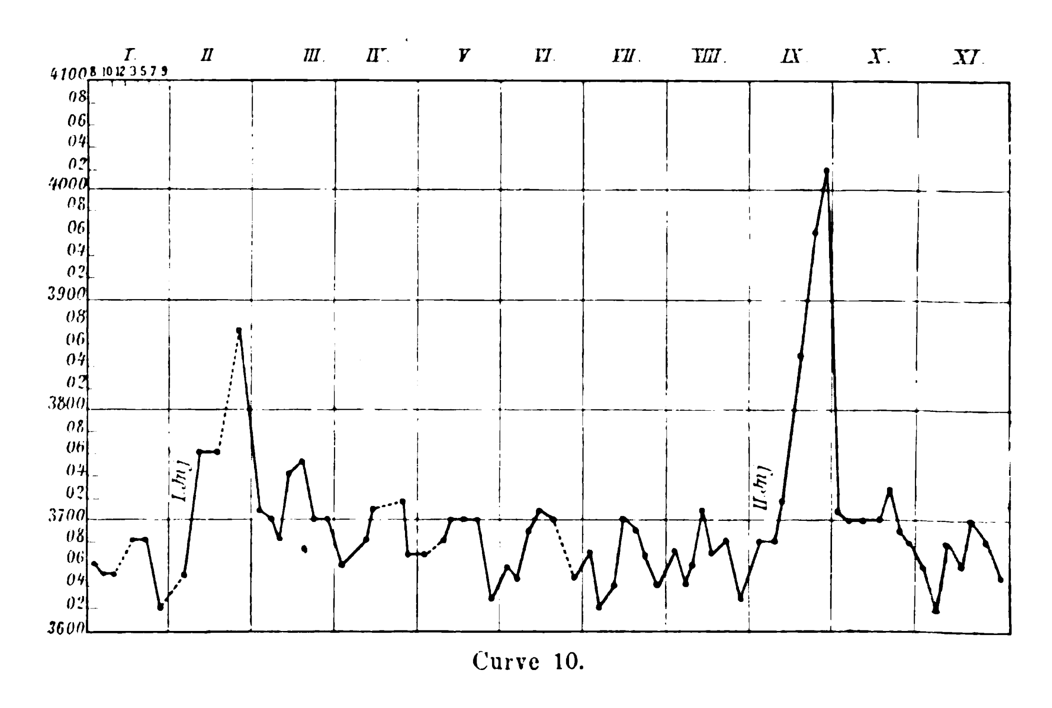


Curve 9.

Injicirt war das erste Mal 0·5 ccm eines gemischten Toxins, welches aus einer 1 procentigen Tuberkelbacillen-Abkochung und dem vierten Theile des Präcipitats der Culturbouillon, also aus 0·005 Tbtx. + 0·00125 Tubtx. bestand. Die darnach auftretende Temperatursteigerung war in Folge voraufgegangener gleichartiger Einspritzungen nicht hoch; dieselbe Injection wiederholt, hätte, wenn überhaupt eine, bestimmt eine noch geringere Temperaturerhöhung bewirkt. Statt dessen wurden 0·2 ccm einer 2 procentigen Tubtx.-Lösung, also 0·004 Tubtx. eingespritzt.

Dasselbe Bild giebt Curve 10. Injicirt war das erste Mal 0·85 ccm desselben gemischten Toxins, also 0·0085 Tbtx. + 0·002125 Tubtx. Das zweite Mal wurden 0·4 ccm der 2 procentigen Tubtx.-Lösung, also 0·008 Tubtx. eingespritzt. (Curven, bei denen auf eine reine Tbtx.-Injection eine solche von Tubtx. folgt, stehen mir nicht zu Gebote; ist auch nicht erforderlich, wenn der Ausfall ein positiver wie hier ist. Denn die vorherige Mitinjection von Tubtx. kann höchstens die Wirkung der zweiten Tubtx.-Injection abschwächen.)

In beiden Fällen bewirkte eine geringere Dosis das zweite Mal eine grössere Temperatursteigerung als das erste Mal, trotzdem das zu der zweiten Injection verwandte Toxin um ein Vielfaches schwächer ist, als das erst genommene.



Curve 10.

Dem gegenüber steht nun die Erfahrung, dass gleiche Dosen des Tuberculosegiftes, in nicht allzu grossen und in nicht allzu kurzen Zwischenräumen dem Organismus einverleibt, die nachfolgenden Male immer geringere Temperaturerhöhungen bewirken als das erste Mal, auf Grund der Immunisirung des Körpers gegen das Toxin. Nur wenn der Zwischenraum von einer Injection zur anderen allzu lang ist, so kann die Immunität inzwischen wieder verloren gegangen sein, und die nachfolgende Injection wird dann von neuem eine Temperaturerhöhung zur Folge haben. Wenn dagegen die Injectionen sich so schnell folgen, dass der Immunisirungsvorgang noch nicht ganz abgelaufen ist, so hat die folgende Injection in

der Regel trotz gleicher Dosis eine Temperatursteigerung zur Folge. Hierauf beruht der von Koch für die probatorische Tuberculoseimpfung als charakteristisch bezeichnete Ausschlag [Köppen (9)].

In den beiden vorliegenden Fällen liegen erfahrungsgemäss die beiden Injectionen gerade soweit aus einander, dass weder der Verlust der Immunität inzwischen eingetreten, noch dass der Immunisirungsvorgang zur Zeit der zweiten Injection im Gange gewesen sein kann. Die einzige Erklärung für die temperaturerhöhende Wirkung des Tubtx. trotz vorausgegangener völliger Immunisirung mit Tbtx. ist die Annahme einer verschiedenen Constitution beider Toxine.



Litteratur-Verzeichniss.

1. v. Behring, P. Römer und W. G. Ruppel, Tuberculose. *Beiträge zur experimentellen Therapie.* Marburg 1902.

2. W. G. Ruppel, Die Proteïne. *Ebenda.* Marburg 1900.

3. E. Maragliano, Das antituberculöse Heilserum und dessen Antitoxin. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1896. Nr. 35.

4. L. Fränkel und O. Bronstein, Experimentelle Beiträge zur Frage über tuberculöse Toxine und Antitoxine. Aus dem chem.-bakteriol. Institut von Dr. Ph. Blumenthal-Moskau. *Ebenda.* 1901. Nr. 33.

5. Bronstein und Fränkel, Der gegenwärtige Stand der Serumtherapie der Tuberculose. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Bd. XXXII.

6. Maragliano, Der Kampf und die Immunisation des Organismus gegen die Tuberculose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 25. — Bericht, erstattet in der II. allgem. Sitzung des XIV. intern. med. Congresses in Madrid.

7. v. Baumgarten, Ueber die pathologisch-histologische Wirksamkeit des Tuberkelbacillus. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1901. Nr. 44—46.

8. Köppen, Studien und Untersuchungen über Pathologie und Therapie der tuberculösen Peritonitis. *Archiv für klin. Chirurgie.* Bd. LXIX.

9. Derselbe, Ueber die probatorische Tuberculininjection. *Beiträge z. Klinik der Tuberculose.* Bd. II.

10. E. Maragliano, Ueber die specifische Behandlung der Tuberculose und eine Schutzimpfung gegen dieselbe. Vortrag, gehalten im Henry Phipps Institut in Philadelphia. Deutsch von Sanitätsrath Dr. Hager. *Zeitschrift für Tuberculose.* 1905. Bd. VII.



[Aus dem Königl. bakteriolog. Institut Camara Pestana zu Lissabon.]
(Director: Dr. A. Bettencourt.)

Zur Kenntniss der durch die Pest verursachten Hautläsionen.[1]

Von

Dr. **Carlos França,**
Abtheilungsvorsteher am Institut.

(Hierzu Taf. IV.)

Während der Pestepidemie, die im Jahre 1899 Oporto heimsuchte, sind Hautläsionen häufig zur Beobachtung gelangt. Entgegen den Erfahrungen, die die deutsche Pest-Commission 1897 in Bombay und später Antonino Ferrari und Alves Guimaraës in Rio de Janeiro gemacht haben, wurde kein einziger Fall beobachtet, in dem nur Hautläsionen, ohne Beulen, zur Erscheinung gekommen wären. Am häufigsten traten Blutungen von den verschiedensten Dimensionen und an allen Theilen des Körpers auf, indessen doch nicht so dicht gedrängt oder dermaassen ausgedehnt, dass sie den im Mittelalter für die Seuche gebräuchlichen Namen der „Schwarzen Pest" hätten rechtfertigen können. In dieser Hinsicht stimmten aber die bei der Epidemie von Porto gemachten Beobachtungen ganz und gar mit den Erfahrungen der österreichischen Pest-Commission in Bombay überein. Bei den 110 ausgeführten Sectionen wurden 46 Mal Hautblutungen beobachtet und nur in 3 Fällen fanden sich keine Pestbacillen im Blute; es erscheint danach die Annahme gerechtfertigt, dass die Hautläsionen vielleicht mit der Anwesenheit des Pestbacillus im Blute in Verbindung stehen.

[1] Ueber die histologische Untersuchung der Nervencentren bei Pestfällen haben wir in Hft. 3 der belgischen Zeitschrift *Le Nevrasca* von 1900 berichtet.



Ausser den Petechien und Ecchymosen wurden andere **Hautläsionen beobachtet, deren Untersuchung den** Gegenstand der vorliegenden Arbeit bildet. Von den untersuchten Stücken wurde die Mehrzahl von uns selber in Porto entnommen, als wir unter der Leitung unseres verehrten Lehrers Camara Pestana die Seuche studirten, der er ja selber leider kurz darauf zum Opfer gefallen ist; andere Stücke verdanken wir der Freundlichkeit des Prof. Dr. Souza Junior.

Die in Sublimat gehärteten Stücke wurden vermittelst der Methoden von Unna, Weigert, Weigert-Minervini, Ramon Cajal und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

I. Karbunkel.

Der seit den ältesten Zeiten bekannte Pestkarbunkel ist diejenige Hautläsion, deren Vorhandensein die schlimmste Prognose rechtfertigt.[1]

Schon Ambrosio Nunes[2] beschreibt bei Gelegenheit der portugiesischen Epidemie von 1598 den Pestkarbunkel mit vieler Genauigkeit und lässt keinen Zweifel über die Schwere der Erkrankung, deren sicheres Anzeichen sie ist.

Während der Epidemie in Oporto, im Jahre 1899, wurden die Pestkarbunkel an 110 Leichen 11 Mal beobachtet, und von dort her stammt das Material, welches uns Veranlassung zu der vorliegenden kleinen histologischen Studie geliefert hat.

Die pathologisch-anatomischen und klinischen Befunde bezüglich des uns beschäftigenden Pestkarbunkels stimmen vollständig mit den classischen Angaben überein. Aus dem schönen Werke von Souza Junior[3] „Ueber die Epidemie von 1899" entnehmen wir darüber Folgendes:

„Die Karbunkel sind rundliche, aus der Oberfläche hervorragende Hautinfiltrationen von bisweilen über 5 cm unterem Durchmesser mit erhöhtem, hartem Rande. In der Mitte erhebt sich das Epithel zu einer Blase, die mit einer trüben, blutig-eitrigen, an Bacillen reichen Flüssigkeit gefüllt ist; zerreisst die Blase, so rollt sich das Epithel zusammen, zieht sich zurück und lässt einen Grund von graugelber oder reinrother Farbe bemerken.

So entsteht der Karbunkelschorf, der beim Schnitt Haut und Zellgewebe verdickt und mit mehr oder weniger eitrigem, hartem Exsudat infiltrirt zeigt.

[1] Ricardo Jorge, *A peste bubonica no Porto.* (Die Beulenpest in Oporto.) 1899.

[2] Ambrosio Nunes, *Tractado repartido en cinco partes principales.* Coimbra 1601. Impresso na Universidades.

[3] Souza Junior, *Peste bubonica.* 1902.



Zahlreiche punkt- und streifenförmige Blutergüsse finden sich in dem Gewebe unterhalb und rings um die Wunde, gewöhnlich ist auch ein gelbliches gelatinöses Oedem vorhanden."

Gewöhnlich fehlt die Gruppe von Bläschen, die wie die bei dem Milzbrand vorkommenden Pusteln den Schorf umgiebt.

Die Karbunkeln können primäre oder secundäre, metastatisch gebildete sein.

Die Mitglieder der nach Bombay entsandten österreichischen Pest-Commission[1] leugnen zwar die Existenz der wirklichen primären Pestkarbunkel nicht, halten sie aber für ausserordentlich selten. Unter den in Oporto beobachteten 11 Fällen kann man von 7 annehmen, dass diese Hautläsionen primärer Natur waren. Die klinische Geschichte desjenigen, den wir Gelegenheit hatten, histologisch zu studiren, lässt über dessen primäre Abstammung keinen Zweifel.

Klinisches. Elisa Carneiro, 10 Jahre alt. Am 16. November 1899 beklagt sich das Kind über eine Anschwellung an der Brust und die Mutter glaubt, dass es sich um einen Furunkel handelt. In der Nacht tritt die Pest auf mit Fieber, Kopfschmerzen, Erbrechen und Stechen in der rechten Seite. Am 19. und 20. XI. schien es der Familie, als ob es der Kranken besser ginge, in der Nacht zum 21. XI. traten aber Beängstigungen, intensive Dyspnoë, dann blutiges Erbrechen ein und der Tod erfolgte um 7 Uhr Abends. Die Anschwellung an der Brust brach auf und der Schorf wurde schwarz wie Kohle.

Sectionsbefund. Die Section 22 Stunden post mortem gemacht. Einige Petechien über den ganzen Körper zerstreut. Eine schwärzliche Ulceration in Höhe der Sternumfurche. Diese wenig tiefe, runde, schwarze Ulceration, von 1 ^{cm} Durchmesser, sitzt mit scharf abgesetzten Rändern auf einer nicht sehr hervorragenden und mittelharten infiltrirten Basis. Es handelte sich um einen Pestkarbunkel.

Unter der rechten Brust ein wenig umfangreicher und eingetrockneter Bubo. Hinter dem Kinnbecken, am Nacken und über dem Schlüsselbein ähnliche Bubonen.

Vereinzelte Petechien auf dem Visceralblatt des Pericardiums, Herz blass und weich, die Klappen roth, die Mitralklappe an den Rändern verdickt; in der Aorta einige kleine Platten von Arteriosklerose.[2]

In der Pleurahöhle starkes blutiges Exsudat, feine Petechien und auf beiden Blättern der serösen Haut breite Ecchymosen. In den Lungen finden sich atelektatische Zonen, Oedem und allgemeine Bronchio-Alveolitis. Die peribronchitischen Ganglien sind roth und angeschwollen.

Milz roth, gross und weich; auf dem Schnitt sieht man Pseudotuberkeln. Leber congestionirt, mit Ecchymosen auf der Gallenblase. Auf der Magen-

[1] *Ueber die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897.* Wien 1900.

[2] Derartige bei Kindern auffällige Sklerosen wurden in Porto sehr häufig beobachtet.

9*



schleimhaut feine Petechien, Ecchymosen und Ulcerationen. Ecchymosen an den Nierenkapseln und zwischen den Malpighi'schen Pyramiden und feine Petechien auf der Schleimhaut der Nierenbecken.

Bakteriologische Befunde. Die directen Präparate aus der Milz und dem Bubo zeigen den Pestbacillus im Zustande anscheinender Reinheit; die mit dem Abschabsel des Pestcarbunkel angelegten Präparate enthalten einige bakterielle Elemente, die man als Involutionsformen des Pestbacillus im Gemisch mit verschiedenen anderen Bakterien ansehen kann.

Die Culturen ergaben eine Reincultur von Pestbacillen aus dem Bubo, der Milz, dem Blut und dem Pleuraexsudat; aus den Culturen des Abschabsels des Pestkarbunkels wurde der Bacillus nicht isolirt.

Histologische Untersuchung. Bei der Beobachtung der Schnitte, die durch die ganze Ausdehnung des Karbunkels geführt wurden, bemerkt man, dass an dem dem Mittelschorf entsprechenden Theil das Stratum germinativum und die Papillen ganz verschwunden sind, so dass das Corium freiliegt.

Die Malpighi'sche Schicht zeigt an der dem Schorf benachbarten Portion vesiculatorische Veränderung. Das Stratum granulosum ist von dem Stratum germinativum durch eine Höhle getrennt, die von Scheidewänden durchsetzt ist. Anscheinend sind es ausschliesslich die Zellen des Stratum germinativum, die durch Zerstörung ihres Protoplasmas zur Bildung dieser Höhlen führen.

In den durch die Scheidewände abgegrenzten kleinen Höhlungen sieht man weder Leukocyten noch Bacillen. Die Dermis zeigt an der den Schorf umgebenden Zone einen ausgedehnten Bluterguss, der die Papillarschicht und das Corium begreift.

In der ganzen Ausdehnung des Schorfes zeigen sich intensiv Leukocyten und Bacillen.

Im Niveau der Verletzung sind die elastischen Fasern theilweise verschwunden und die noch vorhandenen Fasern sind dünner und bleicher; je näher sie dem Schorfe sind, um so weniger zahlreich und um so schwerer färbbar zeigen sie sich.

Die Pestbacillen treten in ausserordentlicher Zahl in der Papillarschicht und im Corium auf; in den noch existirenden Resten des Stratum germinativum sind sie selten.

In dem Unterhautzellgewebe sieht man die Bacillen, allerdings in grösserer Menge nur in den das Gewebe durchsetzenden Gefässen. Sowohl in der Dermis als in der Unterhaut zeigt sich beträchtliches Oedem, das in der ersteren die Bindegewebebündel in einzelne Fibrillen auflöst. Diese



haben bei den nach Unna mit Tannin behandelten Präparaten eine schwache blaue Farbe.

Der Unterschied zwischen den normalen Bündeln und den dem Bluterguss oder der Schorfregion benachbarten ist höchst auffallend. Im unteren Theil des Coriums, zwischen diesem und der Unterhaut, sind die Leukocyten dicht gedrängt und bilden einen weitausgedehnten Herd, in dem man Haufen von Bacillen sieht. Die Leukocyten sind allermeist mehrkernig und zeigen nur vereinzelt die Kariolyse, die nach den Autoren des österreichischen Berichts über die Pest von Bombay die meist verbreitete Läsion vorstellen sollte. Die unsrigen wiesen als häufigste Veränderung die Vacuolisation ihres Protoplasmas auf. Die Bacillen sind durchweg extracellulär, und neben Formen mit scharfer bipolarer Färbung und normalen Dimensionen finden sich einige mit stark vergrössertem Volumen und bleicher, verschwommener Färbung; augenscheinlich sind es Involutionsformen.

In dem Leukocytenherd finden sich einige Mastzellen, theils normale, theils solche mit Vacuolenbildung im Protoplasma. In keinem war das Verschwinden der Granulation zu bemerken.

In dem schon beschriebenen Bluterguss sind neben rothen Blutkörperchen und wenig Leukocyten ziemlich viel Mastzellen und, an einzelnen Punkten zerstreut, Häufungen von Blutpigment zu beobachten. Die Bacillen sind hier verhältnissmässig selten.

Die Untersuchung von Schnitten der Schorfregion zeigt, dass die Haut in diesem Niveau keine einzige Epithelzelle mehr besitzt.

Das Corium, die oberste Schicht in diesem Theil des Karbunkels, hat ein besonderes Aussehen Dank der starken Infiltration von durch und durch veränderten Leukocyten mit sehr deformirten und in offenbarer Kariolyse begriffenen Kernen. Die Pestbacillen erfüllen in dichten Reihen die ganze Haut und sind fast alle frei. Die Gefässe dieser Region sind beträchtlich erweitert und weisen im Inneren zahlreiche Bacillen auf.

Hier und da zeigt das Präparat kleine Blutergüsse und zwischen den rothen Blutkörperchen sieht man Bacillen, die, obschon zahlreich, doch nicht so überaus gedrängt sind, wie an dem Sitz der Leukocyteninfiltration.

Vergleicht man mit diesen histologischen Daten diejenigen von Unna[1] über die Milzbrandkarbunkeln, so bemerkt man zwar eine gewisse Analogie zwischen beiden Hautläsionen, aber doch auch charakteristische Unterschiede.

Auch bei der Milzbrandpustel ist die Einwanderung von Leukocyten sehr intensiv, aber sie sammeln sich nirgends an einem Punkt; ihr zer-

[1] P. G. Unna, *Die Histopathologie der Hautkrankheiten.* Berlin 1894.



streutes Auftreten erklärt, dass die Entzündung niemals zur Eiterung führt. Die Leukocyteninfiltration bei der Milzbrandpustel ist mehr allgemein und findet nicht bloss in der Haut, sondern auch in der Unterhaut und den Muskelschichten bis auf eine gewisse Entfernung vom Herde aus statt.

Bei der Milzbrandpustel ist das Oedem viel intensiver und aus diesem Grunde die Zone von Bläschen regelmässig vorhanden, während sie beim Pestkarbunkel häufig fehlt. Bei dem von uns studirten Pestkarbunkel konnte man die erwähnten Bläschen nur unter dem Mikroskop und in schwacher Ausdehnung beobachten.

Das sind die Hauptunterschiede, die histologisch zwischen den beiden Affectionen vorhanden sind und die natürlich auch ihr verschiedenes klinisches Aussehen bedingen.

Schliesslich sind auch die Bakteridien in den Milzbrandpusteln viel weniger verbreitet als die Kitasato'schen Bacillen in den Pestkarbunkeln.

II. Pusteln.

Unter den 110 tödtlichen Pestfällen von Porto wurden 6 Mal Pusteln und 2 Mal gleichzeitig Pestkarbunkeln beobachtet.

In einigen Fällen waren die Pusteln blatterartig und gedellt. Bisweilen enthielten die Pusteln eine serös-eitrige Flüssigkeit, häufiger aber war der Inhalt serös-blutig, so dass der Anblick des Ganzen dem der schwarzen Pocken höchst ähnlich sah.

Nur in einem von den beobachteten Fällen traten die Läsionen hauptsächlich im Gesicht auf; bei den anderen waren sie über den ganzen Körper verstreut und gerade sehr viel weniger zahlreich im Gesicht als auf dem übrigen Körper, umgekehrt als es bei den Blattern zu sein pflegt.

Die Eruptionen waren denen der Blattern dermaassen zum Verwechseln ähnlich, dass erst die Gegenwart der Pestbacillen zur Gewissheit machen konnte, es handele sich um Pestefflorescenzen. Uebrigens waren in allen 6 Fällen die Pusteln secundäre Symptome und erschienen in den meisten einige Tage nach dem Beginn der Erkrankung und dem Auftreten der Bubonen. Im Folgenden sei ein kurzer Ueberblick über die Zeit des Auftretens der Blasenpusteln in den beobachteten Fällen gegeben.

A. P., 19 Jahre alt. Primärer Bubo auf der rechten Brustseite unter dem M. pectoralis. Schwärzliche Pusteln, zahlreicher auf den Schultern. Tod in 7 Tagen. Beginn der Krankheit am 9. XI. 1899. Auftreten der Beule am 10. XI. Auftreten der Pusteln am 15. XI.



N. B., 24 Jahre alt. Bubo femuro-inguinalis sinister. Blatternartige Eruption über den ganzen Körper, weniger dicht im Gesicht. Tod in 5 Tagen. Erkrankung am 20. X. 1899. Auftreten des Bubo am 21. X.; Eruption am 25. X.

M. dos S. C., 21 Jahre alt. Bubo cruralis dexter, axillaris sinister; Karbunkeln. Pusteln über den ganzen Körper. Tod in 14 Tagen. Beginn der Krankheit am 21. IX., Bubo vor dem 1. X., Pusteln nach dem 1. X.

J. F., 35 Jahre alt. Bubo femuro-inguinalis-iliocalis dexter. Karbunkeln und Pusteln über den ganzen Körper. Tod in 20 Tagen. Invasion am 8. IX., Bubo am 11. IX., Pusteln am 17. IX.

J. S., 14 Jahre alt. Bubo femuro-inguinalis-iliacalis dexter. Blatternartige, hämorrhagische Pusteln über den ganzen Körper, weniger dicht im Gesicht. Tod in 6 Tagen. Bubo am 11. IX. Pusteln am 14. IX. (?)

E. G., 9 Jahre alt. Bubones subauriculares, submaxillares. Allgemeine blatternartige Eruption, stärker im Gesicht. Tod in 28 Tagen. Erkrankung und Auftreten der Bubonen am 21. IX., Pusteln am 24. IX.

Nur bei einem der Kranken zeigte sich das Blut steril; bei den anderen waren im Blutkreislauf die Pestbacillen reichlich vertreten. In allen Fällen, in denen die Flüssigkeit der Blasenpusteln bakteriologisch untersucht wurde, fanden sich darin nur Pestbacillen.

Unsere histologischen Untersuchungen beziehen sich auf Stücke, die von den beiden interessantesten und am vollständigsten beobachteten Fällen stammen. Wir halten es zum besseren Verständniss für angebracht, den klinischen und anatomisch-pathologischen Befund mitzutheilen.

Josi Soures, 14 Jahre alt, Lehrling, erkrankte am 9. IX. 1899 mit Erbrechen, Fieber, Durst, Delirien, Diarrhöe und Schmerzen im rechten Oberschenkel.

Prof. Souza Junior beobachtet ihn am 11. IX. und findet einen voluminösen, derben, leicht gerötheten und schmerzhaften Bubo femuro-inguino-iliacalis dexter; Temperatur 40°, Puls 120, Athmung stark beschleunigt. Der Kranke stirbt am 15. IX., nachdem sich ein Ausschlag eingestellt hat, den der behandelnde Arzt als Variola hämorrhagica bezeichnet.

Die Section wurde 18 Stunden nach dem Tode von dem verstorbenen Prof. Camara Pestana ausgeführt, aus dessen Aufzeichnungen wir Folgendes entnehmen:

Aeusserer Befund: Leichenflecke, stärker vertreten auf der rechten Seite.

Mässiger Ausschlag von Pusteln im Gesicht, auf den oberen Gliedmaassen und der Vorderseite des Thorax; weniger reichlich auf den unteren Gliedmaassen und den Hinterbacken. Die Pusteln haben keine Delle, sind auf den Armen zahlreicher als im Gesicht und auf der rechten Körperseite stärker vertreten als auf der linken. Die auf der linken Seite der Brust und auf dem linken Arm befindlichen Pusteln sind schwärzlich



blutunterlaufen. Der linke Ellbogen geschwollen, im oberen Drittel des rechten Oberschenkels Phlyctänen; am Penis und Scrotum brandige Herde: Ecchymosen an den Bindehäuten, weniger stark am rechten Auge. Decubitus an der rechten Hüfte und Oedem des ganzen linken Beines. Anschwellung der rechten Leistengegend und Gangränplatten am inneren Fussknöchel und im mittleren Drittel der Aussenseite des rechten Beines. Der aufgeschnittene Bubo zeigt blutiges Exsudat und gelatinöse Infiltration des Unterhautzellgewebes. Die Ganglien am Oberschenkel und Schambein sind zusammengeflossen, an Volumen stark vermehrt und reichen bis zu denen des Beckens; das Ganze zeigt übrigens den gewöhnlichen Charakter der Pestbeule.

Einschnitte in die Anschwellung des rechten Vorderarmes und die Bauchwand zeigen gelatinöses Oedem.

Thorax. — Herzbeutelflüssigkeit vermehrt, Gerinnsel in den Ventrikeln, ein Plättchen von Arteriosklerose in der Aorta. Herzmuskel blass und etwas weich. Verwachsungen am oberen und seitlichen Theil der linken Lunge, ausgedehnte Ecchymosen an der Pleura, besonders an der Basis der linken Lunge, Herde von Bronchopneumonie herrührend und ausgedehnte Infarkte an beiden Lungen. Milz an Volumen etwas vergrössert, weich; die Milzknötchen zeichnen sich deutlich ab.

Linke Niere. — Kleine Ecchymosen unter der Kapsel; diese grenzt sich gut ab; Congestion und Trübung der Rindensubstanz. Rechte Niere mit denselben Läsionen und kleinen Knötchen auf der Oberfläche.

Magen. — Zahlreiche Ecchymosen und Petechien.

Därme hyperämisch; die Peyer'schen Platten zeigen sich hypertrophisch. Leber mit brandigen Herden. Bubo pelvi-retro-peritonealis. Gehirnödem.

Die directe Untersuchung ergiebt eine geringe Menge Pestbacillen in der Milz, mehr in den Pusteln, einige in den Phlyctänen, zahlreich in den Bubonen und vereinzelt im Blute.

Die Culturen mit der Herzbeutelflüssigkeit zeigen einige Colonieen des Pestbacillus; die mit den Ganglien, den Phlyctänen und den Pusteln angelegten entwickeln reichlich Colonieen, die Culturen aus Milz und Blut dagegen sehr wenig.

Der Versuch mit Meerschweinchen gab positives Resultat; die geimpften Thiere gingen sämmtlich an Pest zu Grunde.

Der mikroskopische Anblick der Pustel ist, wie der makroskopische, mit dem der Blatternpusteln vollständig identisch. Ueber dem mehr oder weniger veränderten Epithel erhebt sich ein Bläschen, das auf Kosten der oberflächlichen Schichten des Stratum Malpighii gebildet ist.



An der Stelle, wo das Bläschen aufsitzt, sieht man die Zellen des Stratum cylindricum beinahe normal; die des Stratum spinosum zeigen geringe cavitäre Veränderungen.

Von diesem leicht veränderten Epithel durch eine Spalte getrennt, zeigt sich die Basis des Bläschens als aus Zellen des Stratum spinosum gebildet; die Zellen zeigen cavitäre Läsionen, von der einfachen Vergrösserung des Perinuclearraumes an bis zur Bildung vollständiger Höhlungen, die eine ausserordentlich dünne Membran besitzen und einen ganz bleichen, chromatinarmen und stark atrophischen Kern enthalten. Von dieser Basis an werden die cavitären Veränderungen der Zellen immer intensiver und allgemeiner, so dass die Pustel aus einer ungeheuren Zahl kleiner Höhlungen besteht, die mit vielkernigen Leukocyten und Haufen von Pestbacillen gefüllt sind; nur mit Mühe entdeckt man Reste von den Kernen der Zellen, aus denen die Bläschen entstanden sind. Neben diesen kleinen Höhlungen sieht man grössere, durch Scheidewände getrennte, welch' letztere sicher aus Zellen gebildet sind, die den Process der cavitären Veränderung nicht erlitten haben, sondern zusammengedrückt und gestreckt worden sind.

Bei den von uns beobachteten Pusteln hatte fast das ganze Epithel die cavitäre Veränderung erlitten, so dass die obere Wand nur von der Hornschicht gebildet wird, an welcher veränderte Zellen des Stratum granulosum und des Stratum spinosum hängen.

Die Zellen des Stratum granulosum haben nicht bloss im Niveau der Pustel, sondern auch in deren Umgebung kein Eleïdin oder Kerato-Hyalin.

In der Hornschicht sieht man im Niveau der Pustel deutlich die langgestreckten und gut gefärbten Kerne der Zellen dieser Schicht, nicht aber an den Rändern der Läsion.

In der Dermis zeigt sich in der Höhe der Pustel eine ausgedehnte Infiltration, die fast ausschliesslich aus mehrkernigen Leukocyten gebildet ist; dazwischen grosse, scharf umgrenzte Haufen von meistens gut erhaltenen Pestbacillen.

Die Papillen erscheinen ödematös und von polymorpho-nucleären Leukocyten infiltrirt.

Weder Plasmazellen noch Mastzellen treten im Gewebe des Corium auf, nur Bindegewebszellen. Die Gefässe, die in der Gegend der Läsion die Haut durchziehen, zeigen sich durch keinerlei Elemente infiltrirt, ihr Lumen ist sogar frei von Pestbacillen.

Auf Schnitten, die durch den äusseren Rand der Pustel geführt werden, erkennt man noch leichter die Bildungsweise dieser Läsion. Man sieht da deutlich die verschiedenen Phasen der Entstehung der Hohlräume



und kann, da an diesen Stellen die Epidermis noch nicht von Leukocyten durchsetzt ist, die verschiedenen Veränderungen besser erkennen.

Das Studium dieser Schnitte gestattet ferner die Beobachtung, dass ausser der Bläschenbildung auch ein Zwischenödem vorhanden ist, das eben die Abtrennung der Pustelbasis bewirkt. Die Veränderungen der Dermis sind die schon beschriebenen.

Joaquina Fermandes, 35 Jahre alt, Dienstmädchen.

Erkrankte am 8. IX. mit Schmerzen in den Beinen, Angstgefühl. Erbrechen und Fieber (40°); dann tritt Delirium, schweres Sprechen und Hervortreten der Augen auf. 3 Tage später bemerkt man am rechten Oberschenkel eine selbst bei starkem Druck kaum schmerzhafte Anschwellung.

Am 12. IX. wird die Kranke mit Delirien, grosser Schwäche, Bubo in der rechten Weiche und Anschwellung der Nackendrüsen in das Isolirkrankenhaus eingeliefert. Bubo pelvicus dexter; Culturen des Blutes, unmittelbar nach der Einlieferung der Kranken angelegt, ergeben zahlreiche Colonieen von Pestbacillen.

Am 13. IX., nach subcutaner Einspritzung von 40 ccm Serum, bleiben die Blutculturen steril.

Am 14. IX. erscheinen zahlreiche Petechien im Gesicht, auf der Brust und den oberen Gliedmaassen.

Vom 17. bis zum 19. IX. Ausbruch der Pusteln. Diese enthalten reichlich Pestbacillen mit Phagocyten. Vollständige Bewegungslosigkeit und Schwäche. Beständiges Phantasiren.

Am 17. IX. erschien, zur gleichen Zeit mit den Pusteln, ein diffuses subcutanes Oedem. Vom 18. IX. an scheint sich der Zustand der Kranken zu bessern.

Am 21. IX. bemerkt man in der rechten Iris drei Knötchen. Am 22. IX. erscheinen in der linken Iris zwei ebensolche weisse Punkte. Die rechte Iris ist durch Synechien deformirt; das Sehvermögen fast gänzlich verloren. Der Zustand der Kranken verschlimmert sich und sie stirbt nach langer Agonie am 27. IX.

Section 3 Stunden nach dem Tode. — Aeusserer Befund: Eine Erosion mit scharfen Rändern und zerfressenem Grunde im oberen Drittel des rechten Armes; daneben Ecchymosen und ein flacher Substanzverlust; eine Ecchymose über der linken Brustwarze, eine weitere an der linken Hüfte; Narben von frischen Pusteln an den Knieen, Ecchymosen an den Vorderarmen, in der Höhe der Punkte der intravenösen Injectionen; Decubitus am Kreuzbein.



In der Gegend der rechten Weiche eine wenig entzündete Anschwellung, die von Pustelnarben bedeckt und umgeben ist. In dem oberen äusseren Theile der linken Conjunctiva zeigt sich eine Pustel von der Grösse eines Maiskornes mit milchigem Inhalt; um sie herum verschiedene andere sehr kleine Pusteln; linke Hornhaut transparent; die Iris ist durch Anhängsel oben deformirt und zeigt weisse Punkte; Hypopion; am unteren äusseren Rand der Iris finden sich zwei Pusteln, am unteren inneren eine.

Brusthöhle. — Herzbeutelflüssigkeit vermehrt, Herzmuskel bleich, gelblich und weich. Lungen frei, an den Spitzen emphysematös, mit Herden von Bronchopneumonie, von denen einer den vorderen und mittleren Theil des unteren rechten Lappens einnimmt und beim Durchschnitt drei deutlich unterschiedene Zonen, eine nekrotische in der Mitte, eine dunkelrothe Zwischenschicht und eine hellrothe Randschicht erkennen lässt.

Bauchhöhle. — Milz mit runzeliger Kapsel und Pseudotuberkeln.

Nieren an Volumen vermehrt und mit schwierig abziehbarer Kapsel. Die Oberfläche beider Nieren zeigt eine grosse Zahl aschgrauer Granulationen von verschiedener Grösse, einige von speckigem, andere von käsigem Aussehen. Die Rindensubstanz vermehrt, körnig und degenerirt, die Marksubstanz mit blutigen Punkten.

Magen mit Petechien, besonders in der Gegend der Cardia und der grossen Biegung.

Leber. — Keine nekrotischen Stellen, aber deutliche Zeichen von Hepatitis.

Der Bubo femuro-inguinalis setzt sich in die Becken- und Retroperitoneallymphdrüsen fort. Die letzteren zeigen die Charaktere von Pestbubonen.

Die Oeffnung der Schädelhöhle zeigt starke Spannung der Dura mater und Hyperämie der Pia mater.

Die Flüssigkeit der Räume unter der Arachnoidea vermehrt und trübe. An der Basis des Gehirns fibrinöses Exsudat. Hirnsubstanz blass und ödematös.

Bakteriologische Untersuchung. — Geringe Menge Pestbacillen im Exsudat des Gehirns und noch weniger in den Nierenknötchen und in dem Bubo. Blut und Milz steril.

Histologische Untersuchung. — Die Epithelzellen sind im Niveau der Erosionen vollständig verschwunden. In den unmittelbar angrenzenden Theilen zeigen sich die Zellen des Stratum germinativum blass und an einzelnen Punkten erscheinen cavitäre Veränderungen.



Die Zellen des Stratum cylindricum sind beträchtlich mit feingekörntem Pigment infiltrirt.

Das Corium zeigt reichlich blutige Stellen. Die blutigen Herde finden sich vorzugsweise in der papillären Zone; indessen treten einige auch in tieferen Schichten auf, in der Nachbarschaft der Glomeruli der Schweissdrüsen, in die jene selber bisweilen eindringen.

In diesen blutigen Herden finden sich ausser den gewöhnlichen Elementen zahlreiche spindel- oder sternförmige Zellen mit intensiv violett gefärbtem Protoplasma und fast farblosem Kern, aber gut gefärbtem Nucleolus. Diese Zellen sind reichlich in der Nähe der Gefässe vorhanden, denen sie sich in der Form anschmiegen, indem sie bogenförmige Gestalt annehmen und sich in concentrischen Schichten zusammenlagern; es müssen Connectivzellen von hypertrophischem Spongioplasma sein, und sie entsprechen vermuthlich den von Unna als Spindel-, Spinnenzellen u. s. w. bezeichneten Gebilden. Andere Zellen zeigen in ihrem Protoplasma mehr oder weniger reichliche und voluminöse, ganz intensiv dunkelgrün gefärbte Granulationen, es sind von Pigment durchsetzte Bindegewebszellen. Sie haben einen farblosen Kern und nur einen einzigen centralen, verhältnissmässig grossen Nucleolus.

Die letzteren Zellen, die viel weniger reichlich vorhanden sind, als die anderen, finden sich nicht nur in den blutigen Herden, sondern hauptsächlich an denjenigen Stellen der papillären Zone, an denen keine Blutung vorhanden ist. Ihre Form ist mannigfaltig, indessen herrscht die Spindelform vor. Häufiger sind die Mastzellen, die in mehr unregelmässiger Gestalt auftreten; einige sind rundlich, andere länglich, viele mit Fortsätzen versehen.

Die Granulationen sind zum grössten Theil dicht gedrängt, so dass sie den Zellkern verdecken; bisweilen sind sie aber viel weniger dicht und in der Längsrichtung orientirt, so dass man den Zellkern deutlich unterscheiden kann.

Die Mastzellen sind ebenfalls an gewissen Stellen häufiger in der papillären Zone als im Innern der blutigen Herde. Auch in den Glomerulis der Schweissdrüsen und um die Haarbälge herum sind sie zahlreich.

Die blutigen Herde enthalten einzelne Haufen von Pestbacillen. Schnitte durch den Rand der Pustel zeigen ausgedehnte Blutungen im Corium und der papillären Zone. Ausser den cavitären Veränderungen im Protoplasma der Zellen des Stratum germinativum zeigt sich dort ein intracelluläres Oedem und die Zellen sind länglich. Die Veränderungen sind hier viel tiefer gehend als die in dem Falle Josi Soures beobachteten. Das Bläschen ist auf Kosten aller Schichten des Malpighi'schen Stratum entstanden.



Die Gefässe des papillären Körpers sind übermässig erweitert. In den Papillen und dem darunterliegenden Corium zeigen sich starke Infiltrationen von einkernigen Leukocyten; Blutergüsse mit zahlreichen Pestbacillen. Gotschlich[1] und Zabolotny[2] haben ebenfalls blatternähnliche, über den ganzen Körper verstreute Eruptionen beschrieben, aber soweit man aus dem Studium der medicinischen Litteratur ersehen kann, sind derartige Fälle selten. Der von Gotschlich während der Epidemie von Alexandrien beobachtete Fall ist besonders merkwürdig. Die Pusteln waren zahlreicher im Gesicht und auf den Händen, als auf dem übrigen Körper. Initialbubo und zwei Pusteln, die nach des Autors Meinung die Eingangspforte vorstellten. Erst 2 Tage später erschien der allgemeine Ausbruch der Pusteln. Die mit dem Inhalt der Pusteln gemachten Aussaaten ergaben Reinculturen des Pestbacillus, die mit dem Blut angelegten blieben steril. Die Untersuchung von Schnitten gab ebenfalls negatives Resultat. Gotschlich ist der Meinung, dass der allgemeine Ausbruch der Pusteln in Folge der Verbreitung des Bacillus durch die Fingernägel des Kranken verursacht worden sei, was das stärkere Auftreten der Pusteln im Gesicht und auf den Händen erklären würde. Bei der Epidemie von Porto, wo das Gesicht im Allgemeinen verschont blieb, zeigte sich das Blut in allen Fällen inficirt.

III. Pemphigus.

Der Pemphigus ist, seiner Seltenheit wegen, sicher die merkwürdigste von den Hautläsionen, die wir bei Gelegenheit der Portuenser Pest beobachten konnten.

Die histologische Untersuchung zeigte mit aller Schärfe, dass es sich in der That um eine Pestläsion handelte. Der Fall war folgender:

Maria Teixeira de Mello, 14 Jahre alt, Dienstmädchen. Erkrankt am 1. XI. 1899 mit Kopfschmerzen, Erbrechen und brennendem Durst. Am 2. XI. tritt Schmerz in der rechten Leiste mit geringer Drüsenanschwellung auf, dann starkes Fieber mit Phantasiren; der Kopfschmerz hört auf.

Am 3. XI. verschlimmert sich der Zustand mit schmerzhaften Anschwellungen zu beiden Seiten des Halses, Oedem des ganzen linken Unterschenkels und drei Blasen an der Innenseite des rechten Beines. Am 5. XI. wird die Kranke von Prof. Souza Junior beobachtet, der

[1] Emil Gotschlich, Die Pestepidemie in Alexandrien im Jahre 1899. *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXV.

[2] Citirt im *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* von Kolle u. Wassermann.



Folgendes constatirt: Temperatur 38·6°, Puls miserabel, weiss belegte Zunge, Congestion der Augen, Gesichtsausdruck höchst schmerzvoll, kalte Extremitäten, Athmung röchelnd.

Grosse Bubones retro-submaxillares, cervicales et crurales (rechts etwas grössere). Am Bein finden sich zwei Blasen vom Pemphigus und ein Karbunkel. Einige Stunden nach der Untersuchung durch Prof. Souza Junior erfolgt der Tod, die Section wird 3 Stunden post mortem gemacht.

Sectionsbefund. Aeusserer Habitus. — Auf der inneren Seite des rechten Beines ein Karbunkel und zwei Blasen vom Pemphigus von je etwa 15 mm Durchmesser. Oedem der grossen rechten Schamlippe und des ganzen rechten Unterschenkels, Oedem der Bauchwand (rechtsseitig) und der Brustwand; Anschwellung zu beiden Seiten des Halses und über dem linken Schlüsselbein. Beim Durchschneiden sieht man, dass der Femuro-Inguinalbubo in das ganze Scarpa'sche Dreieck eindringt und dass das ihn umgebende gelatinöse Oedem auch das Zellgewebe der angegebenen Theile durchtränkt. Bubones retro-submaxillares et cervicales.

Thorax. — Herzbeutelhöhle mit Flüssigkeit gefüllt. Das innere Blatt des Herzbeutels weiss, verdickt und mit kleinen Sehnenflecken besetzt; am rechten Herzohr Ecchymosen.

Die Herzkammern sind mit fibrinösen Gerinnseln gefüllt. Bemerkenswerth ist nur die Verdickung der Ränder der Mittelklappe. An der Basis der linken Lunge kleine Petechien, am oberen Lappen kleine atelectatische Herde, am unteren emphysematische Streifen. An der rechten Lunge frische Verwachsungen zwischen den Lappen und Anzeichen von Broncho-Alveolitis.

Lymphdrüsen an den Bronchien im Volumen vergrössert und von dunkler Farbe.

Bauchhöhle. — Am Bauchfell reichliches blutiges Exsudat. Schleimhaut von normalem Aussehen. Milz gross und weich mit zahlreichen, stark hervorstehenden Pseudotuberkeln besetzt. Suprarenale Kapseln an Umfang stark vergrössert, congestionirt und weiche Nieren mit etwas angewachsener Kapsel, körnig und auf dem Schnitt sehr trübe; Blutungen an der Aussenwand der Ureteren und feine Petechien auf der Schleimhaut derselben. Leber an Volumen vermehrt, mit zahlreichen brandigen Herden. Petechien auf der Magenschleimhaut. Die Schleimhaut der Blase zeigt sich ödematös; ebenso das Zellgewebe der rechten Fossa iliaca; an derselben Seite Bubo pelvi-retro-peritonealis, von Blutungen umgeben. Mesenterialdrüsen an Volumen vergrössert.

Kopfhöhle. — Hirnhäute übermässig gespannt, Vermehrung der Hirnflüssigkeit und Congestion des Gehirns.

Bakteriologische Untersuchung. — Die mikroskopischen Präparate zeigten grosse Mengen Pestbacillen in den Bubonen und in der Milz; durch Culturen wurden sie ferner im Blut, im Rückenmark und im Karbunkel nachgewiesen.

Histologische Untersuchung. — Die Blasen entstehen unter der Epidermis durch Erhebung des ganzen Epithels unter Verschwinden der Interpapillenkegel. Um die Blase herum zeigt das Epithel ganz normales Aussehen, aber derjenige Theil desselben, der die Läsion bildet, ist stark modificirt. Die Zellen des Stratum germinativum sind von einander getrennt, stark verlängert und haben ihr Färbvermögen verloren. In den Zwischenräumen zwischen den einzelnen Zellen sieht man zahlreiche Pestbacillen, meistens in der Form von Diplobacillen, und einige rothe Blutkörperchen.

Im Inneren der Blase finden sich ausserordentlich viele mehrkernige Leukocyten, einige rothe Blutkörperchen und viele Pestbacillen. Unter den Leukocyten sind reichlich eosinophile vertreten, aber sie scheinen gleichwohl nicht vorherrschend.

Im Corium zeigen sich ungeheure Massen von Pestbacillen, gut gefärbt und mit den gewöhnlichen Merkmalen. Die Haufen sind so gross, dass man sie in den nach Unna gefärbten Schnitten mit blossem Ange sehen kann; sie liegen gewöhnlich in der Nähe der Gefässe und nehmen das Corium in der ganzen, der Blase entsprechenden Ausdehnung ein.

In einigen Schnitten sieht man zahlreiche Leukocyten in der Dermis, fast alle mehrkernig.

In der Höhlung derjenigen Gefässe, die nicht grosse Bacillenhaufen in der Nähe haben, sieht man zwischen den rothen Blutkörperchen einige Pestbakterien von normalem Aussehen. Einige Capillaren enthalten richtige Pfropfen von Pestbacillen.

Die Bacillen in der Dermis sind um so dichter gedrängt, je näher man an die Blase kommt, so dass an dem Punkte, wo die Epidermis sich abhebt, das Corium mit theils normalen, theils in Involution befindlichen Bacillenhaufen vollständig gefüllt ist.

In scharfem Gegensatz zu diesem kolossalen Auftreten von Pestbacillen steht bei den meisten Schnitten das Fehlen von Infiltrationen seitens irgend welcher histologischen Elemente. Nur Mastzellen finden sich in grosser Zahl im Corium und in noch grösserer in der Höhe der Läsion in der Pemphigusblase. Diese mit körnigem Inhalt versehenen Mastzellen haben das gewöhnliche Aussehen.

Die angegebenen Veränderungen erstrecken sich bis auf die oberen Schichten der Cutis.

Solcher Gestalt waren die histologischen Befunde bei dem einzigen Fall von Pestpemphigus, den wir bei der Portuenser Epidemie zu beobachten,[1] Gelegenheit hatten.

[1] Wir haben einen pemphigoiden Fall studirt, mit dem aber Pestbacillen nichts zu thun hatten.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. IV.)

Fig. 1. Schnitt durch einen Pestpemphigus. Die schwarzen Stellen im Corion sind Pestbacillenhaufen. Polychrom. Methylenblau nach Unna. Vergr. 15 : 1.

Fig. 2. Schnitt durch denselben. Hämalaun-Eosin. Vergr. 10 : 1.

Fig. 3. Schnitt durch eine Pestpustel. Dreifachfärbung n. Bajol. Vergr. 20 : 1.

Fig. 4. Schnitt durch einen primären Pestkarbunkel. Man sieht einen Theil des Schorfes. Polychrom. Methylenblau nach Unna. Vergr. 20 : 1.

Fig. 5. Ein Bacillenhaufen des Schnittes Fig. 1, stärker vergrössert. Vergr. 1000 : 1.

Fig. 6. Ein grosser Theil des beschriebenen Pestkarbunkels. Natürl. Grösse.



[Aus dem hygien.-chemischen Laboratorium der Kaiser-Wilhelms-Akademie.]

Ueber eine nicht bakterielle Ursache für die Auftreibung von Fleischconservenbüchsen.

Von

Prof. Dr. **E. Pfuhl**, Generaloberarzt
und
Dr. **Wintgen**, Corpsstabsapotheker.
in Berlin.

Bei der Entscheidung der Frage, ob eine Fleischconserve verdorben ist, gilt die Auftreibung (bombage) der Büchse als ein sicheres Kennzeichen des Verdorbenseins.

In der uns zugänglichen wissenschaftlichen Litteratur über die Fleischconserven wird als Ursache der Auftreibung stets die Bildung von Gas in Folge von Bakterienwucherung angegeben. Auf dem Congress für Hygiene und Demographie in Brüssel 1903, wo die ersten Kenner der Fleischconservenfrage, wie Sforza, Vaillard und Ranwez über Fleischconserven sprachen, hat der letztere dies mit den Worten ausgedrückt: „Les boites qui bombent à l'incubation sont des boites infectées." Auch in unserem Laboratorium wurde bisher keine andere Entstehungsursache gefunden, als die bakterielle. Die Praktiker, die mit der Conservenfabrikation selbst zu thun haben, nehmen ebenfalls an, dass man an der Auftreibung der Deckel und Böden erkennen könne, ob Bakterienentwickelung mit Gasbildung eingetreten sei.

Ist die Bakterienwucherung bereits weit vorgeschritten, so stemmen sich die Deckel und Böden der auf sie drückenden flachen Hand ballartig entgegen und lassen sich auch bei Anwendung grösserer Kraft nicht nach innen zurück drücken. Hat die Gasentwickelung erst begonnen, so lassen sie sich noch leicht eindrücken, kehren aber nachher in ihre alte Stellung zurück. Wird die Bakterienentwickelung in solchen Büchsen weiter begünstigt, wie z. B. dadurch, dass man sie in einen Brütschrank stellt, so nimmt die Spannung noch zu.

Von Interesse erscheint daher das Ergebniss der Untersuchung einer Reihe von cubischen $^3/_1$-Portionsbüchsen, wo eine mässigstarke Auftreibung vorhanden war, aber die Gasbildung nach Einwirkung der Brüttemperatur nicht zunahm und, wie die weitere Prüfung ergab, auch nicht durch Bakterien bedingt war. Es handelte sich dabei um Büchsen, die vor $2^1/_2$ Jahren zu Versuchszwecken aus galvanisch schwach verzinntem Blech gezogen und aussen lackirt waren.

Da andere cubische $^3/_1$-Portionsbüchsen, die aus stark verzinntem Blech gezogen und in gleicher Weise sterilisirt waren, keine Auftreibung zeigten, so entstand der Verdacht, dass die Auftreibung der untersuchten Büchsen nicht durch Bakterien, sondern durch chemische Vorgänge bedingt sein könnte. Der Verdacht wurde noch dadurch verstärkt, dass in mehreren angestochenen und wieder verlötheten Büchsen trotz erneuter Sterilisation doch wiederum Gasbildung aufgetreten war. Dies sprach gegen eine bakterielle Ursache, dagegen sehr für chemische Vorgänge.

Nach diesen Beobachtungen und Erwägungen sahen wir mit Spannung dem Ergebniss der bakteriologischen Untersuchung entgegen.

Diese wurde unter den Vorsichtsmaassregeln vorgenommen, wie sie sich in den letzten Jahren im Laboratorium gut bewährt haben, und zwar wurden dieses Mal die aufgetriebenen Büchsen gleich breit geöffnet. Bei zweien geschah dies, ohne dass sie vorher in den Brütschrank gestellt waren, bei sechsen nach 3 bis 5 tägigem Verweilen im Brütschrank. Beim Einstechen des Conservenöffners in den Deckel zischte Gas heraus, das keine Spur eines unangenehmen Geruchs zeigte. Nachdem die Büchse geöffnet war, wurden sowohl vom Fleisch als auch von der Bouillon Proben entnommen, um sie auf aërobe und anaërobe Keime zu untersuchen. Dabei erwiesen sich die Conserven als vollständig keimfrei. Das Aussehen des Büchseninhaltes war tadellos, der Geruch und Geschmack bei einigen Büchsen etwas metallisch, sodass der Genuss des Fleisches von manchen Personen zurückgewiesen wurde. Wo der metallische Geruch und Geschmack weniger ausgesprochen war, wurde das Fleisch gegessen und bekam den betreffenden Personen sehr gut. Die Reaction war in einzelnen Büchsen deutlich alkalisch, in anderen amphoter.

Wenn also für die Gasbildung ein chemischer Vorgang in Frage kam, so musste dieser auf die Beschaffenheit des Inhaltes der Büchse keine erhebliche Wirkung ausgeübt haben. Dafür hatte er aber auf der stark angegriffenen Innenfläche der Wandung Producte hinterlassen, die als weissliche, körnige Gebilde ins Auge fielen. Da es von Interesse war, die chemische Zusammensetzung dieser Gebilde, sowie des entwickelten Gases festzustellen und auch den chemischen Vorgang kennen zu lernen, der zu diesen Veränderungen geführt hatte, so wurde zur chemischen Untersuchung geschritten.

Untersuchung des Gases.

Zur Gewinnung des Gases wurden die Büchsen unter Wasser angestochen, und das entweichende Gas in ein Eudiometer geleitet.

Das Volumen des Gases war bei den einzelnen Büchsen ungleich, es betrug 30 bis 60 ^{ccm}. Das Gas war geruchlos, brannte mit lichtschwacher, rein blauer Flamme und explodirte, wenn es mit Luft gemischt entzündet wurde. Es lag deshalb nahe, anzunehmen, dass reiner Wasserstoff vorläge, doch ergab die Untersuchung des Gases in drei Büchsen nur einen Wasserstoffgehalt von 66·7 bis 84 Proc. Methan und Kohlensäure waren nicht vorhanden. Sauerstoff wurde in zwei weiteren Büchsen zu 3·5 Proc. und 1 Proc. gefunden.

Das in den Conserven angesammelte Gas besteht hiernach aus Wasserstoff, dem kleine, wechselnde Mengen Luft beigemischt sind. Die Gegenwart von Luft erklärt sich dadurch, dass beim Auffalzen der Deckel auf die gefüllten Büchsen ein wenig Bouillon verschüttet werden kann und dafür Luft eintritt.

Untersuchung des körnigen Ansatzes an den Büchsenwandungen.

Der körnig-warzenförmige Ansatz war in den frisch geöffneten Büchsen rein weiss. Unter der Einwirkung der Luft färbte er sich schnell graublau. In den einzelnen Büchsen trat er verschieden stark auf; durchschnittlich konnten aus jeder Büchse 0·1 bis 0·2 ^{grm} gewonnen werden. Die einzelnen Gebilde erreichten die Grösse von Stecknadelköpfen. Bemerkenswerth war, dass der Ansatz nur an den Seitenwandungen, nicht dagegen am Boden oder Deckel der Büchsen beobachtet wurde.

Im Wasser war er unlöslich, dagegen leicht löslich in verdünnten Mineralsäuren.

Die qualitative Prüfung ergab Eisen, Phosphorsäure und Spuren von Zinn.

Bei der quantitativen Bestimmung der wasserfreien Substanz wurden

56·78	Proc.	Eisenoxydul,
0·82	„	Zinn und
41·76	„	Phosphorsäureanhydrid

ermittelt.

Hieraus geht hervor, dass der Niederschlag aus phosphorsaurem Eisenoxydul, das unter der nachträglichen Einwirkung der Luft theilweise oxydirt war, besteht. Das Zinn ist lediglich als Verunreinigung zu erachten; es war beim Entfernen des Ansatzes von den Wandungen der Büchsen mit abgestossen worden.



Die Entstehung des Ansatzes und die Bildung von Wasserstoff stehen in directem Zusammenhange. Ihr Auftreten ist in folgender Weise zu erklären.

Die galvanische Verzinnung der Büchsen ist, wie bereits hervorgehoben wurde, sehr dünn. Während das für Fleischconserven sonst verwandte Weissblech der betreffenden Fabrik 0·78 ^{grm} in 100 ^{qcm} Fläche enthält, wurde bei diesen Versuchsbüchsen nur 0·048 bis 0·07 ^{grm} Zinn für die gleiche Fläche gefunden. Die in Folge dessen sehr dünne Zinnschicht der Bleche wird beim Verarbeiten — die Büchsen werden aus einem Stück gezogen — sehr angegriffen und rissig. Der Inhalt der Büchsen vermag daher direkt durch die Zinnschicht hindurch auf das Eisen einzuwirken. Nun besitzt die in der Conserve enthaltene Bouillon in Folge ihres Gehaltes an sauren Alkaliphosphaten und organischen Säuren, vornehmlich Milchsäure, schwach saure Reaction. Es lag deshalb nahe, in letzterer die Ursache für die chemische Einwirkung zu suchen. Wie daraufhin angestellte Versuche ergeben haben, wird das galvanisch verzinnte Büchsenblech von 0·05 procentiger luftfreier Milchsäure bei 120° unter Lösung von Eisen und unter Wasserstoffentwicklung angegriffen, nicht dagegen durch eine 0·5 procentige Lösung von saurem Monokaliumphosphat. Weiterhin wird durch Einwirkung einer Monokaliumphosphatlösung, welche 0·05 Proc. Milchsäure enthält, ein Niederschlag erzeugt, in dem sowohl Eisen wie Phosphorsäure nachweisbar sind. Schliesslich konnte nachgewiesen werden, dass dieser Niederschlag auch entsteht, wenn frisch hergestellte Bouillon auf das hier vorliegende verzinnte Blech einwirkt. Demnach ist anzunehmen, dass es die organischen in der Bouillon enthaltenden Säuren sind, welche Eisen lösen, und dass das gelöste Eisen sich mit den Phosphaten unter Bildung des wasserunlöslichen Ferrophosphates umsetzt. —

Das Ergebniss der Untersuchungen lässt sich dahin zusammenfassen, dass die Ursache für das Auftreiben der Conserven nicht in der Anwesenheit lebender Keime, sondern in der ungenügenden Verzinnung des Büchsenmateriales zu suchen ist, dass die Gasbildung und Abscheidung von phosphorsaurem Eisenoxydul auf die Einwirkung der in der Bouillon enthaltenen organischen Säuren auf das Eisen der Büchsenwandungen und nachfolgende secundäre Processe zurückzuführen ist.



Versuche zur Immunisirung gegen Tsetsekrankheit.

Von

Dr. **C. Schilling,**
Abtheilungsleiter im Institut für Infectionskrankheiten.

Im Jahre 1901 hat R. Koch einen „Versuch zur Immunisirung von Rindern gegen Tsetsekrankheit (Surra)" veröffentlicht[1], welchen er schon im Jahre 1897 in Ostafrika angestellt und seitdem im Auge behalten hatte. Koch hatte von einem spontan erkrankten Rinde Blut auf eine Ratte, von dieser auf einen Hund und wiederum zurück auf ein Rind übertragen. Während die Parasiten nach diesen Passagen durch Hund und Ratte für diese Thierarten virulent geblieben waren, hatten sie ihre Virulenz Rindern gegenüber eingebüsst. Wohl traten in dem Blute der damit behandelten Thiere noch Parasiten auf, aber, von etwa 6 Wochen nach der Impfung ab gerechnet, waren mikroskopisch niemals mehr Parasiten in ihrem Blute nachzuweisen, auch blieben sie frei von jeder Krankheiterscheinung. Eins der Rinder ging verloren, das andere wurde wiederholt mit parasitenhaltigem Blute geimpft, ohne irgendwelche Krankheiterscheinungen zu zeigen. „An der vollständigen Immunität dieses Rindes kann deswegen nicht gezweifelt werden."

Im Jahre 1903 hatte Koch Gelegenheit, dasselbe Thier in Dar-es-Salem wieder zu untersuchen.[2] Ob das Thier seitdem im Tsetsefliegenland gewesen war, ist nicht angegeben. Das Blut wurde mehrfach mikroskopisch auf Trypanosomen untersucht, mit negativem Resultat. Als aber Blut von diesem Thier auf einen Hund übertragen wurde, erwies es sich als infectiös. „Dieses künstlich immunisirte Rind hatte somit jahrelang,

[1] *Deutsches Colonialblatt.* 1901. Nr. 24.

[2] Ueber die Trypanosomenkrankheiten. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 47. S. 1705.



trotz anscheinenden Wohlbefindens, Trypanosomen bei sich gehabt. Es befand sich in demselben Zustand wie die grossen Antilopen und Büffel, welche nach dem Urtheil aller erfahrenen Kenner in den Tsetsegebieten die Hauptquelle für die Tsetseinfection bilden. Wollte man grosse Rinderherden in solcher Weise immunisiren, dann würde man sich dauernd weitere Infectionsquellen schaffen, und die Tsetsekrankheit, welche wir durch die künstliche Immunisirung ausrotten zu können hofften, würde auf solche Weise nur dauernd erhalten werden. Unter solchen Umständen wird man es erklärlich finden, wenn ich es nicht mehr rathsam finde, die Tsetsekrankheit durch künstliche Immunisirung zu bekämpfen."

In den Jahren 1902 bis 1904 habe ich im Auftrage der Colonial-Abtheilung eine Reihe von Versuchen zur Bekämpfung der Tsetsekrankheit ausgeführt, zum Theil in Berlin im Laboratorium des kaiserl. Gesundheitsamtes, dessen Präsidenten, Hrn. Geheimrath Dr. Köhler, ich auch an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank für seine in mehr als einer Richtung gewährte Unterstützung aussprechen möchte; zum Theil in unserem Schutzgebiet Togo, wobei allerdings ein grosser Theil der mir zur Verfügung stehenden Arbeitzeit durch Reisen (z. B. nach Kamerun) und Vorarbeiten für die eigentlichen Versuche in Anspruch genommen war.

Die Grundlage meiner Versuche bildet die erwähnte Mittheilung von Koch.

Das Material an Rindern für meine Versuche war zweierlei Art:

1. Küstenvieh, welches auf dem Küstenstreifen zwischen Lagune und Meer gezogen wird, und wahrscheinlich niemals über diesen Küstenstrich hinaus ins Innere kam. Auf diesem Küstenstreifen kommen nun, wie ich lange Zeit hindurch beobachten konnte, Glossinen so selten vor, dass von einer Gefahr der Spontaninfection mit Nagana kaum die Rede sein kann. Während meines Aufenthaltes auf diesem Küstenstreifen (im ganzen etwa 1 Jahr) habe ich nur einmal eine echte Tsetsefliege in der Nähe des Viehes gesehen, den Eingeborenen ist sie ganz unbekannt, während man sie jenseits der Lagune sehr genau kennt.

2. Vieh aus dem Inneren. Die verschiedenen Viehrassen, welche im Inlande von Togo vorkommen, sind, was ihr Verhalten der Tsetsekrankheit gegenüber anlangt, wahrscheinlich vollkommen gleich: sie sind alle der Krankheit unterworfen. Nur bestehen vielleicht Unterschiede in ihrer Widerstandskraft. Ueber die Rassencharaktere und ihre durch keinerlei Verständniss für rationelle Viehzucht gehemmte Mischung ist hier nicht der Ort zu berichten. Meine Aufgabe war es, das grosse und werthvolle Vieh des Hinterlandes der Bezirke Basari, Sokodé und Mangu für den Transport und eventuell auch für den Export zur See verwerthbar zu machen.



Versuche.

1. Das Ausgangsmaterial für den folgenden Versuch entnahm ich einem spontan erkrankten Pferd (25. I. 1902), und übertrug die Parasiten sechs Mal hintereinander, abwechselnd auf graue Ratten und Hunde. Nach diesen zwölf Passagen musste das Virus durch Hunde weiter gezüchtet werden, weil ich keine grauen Ratten mehr bekommen konnte. Mit diesem Material, welches schliesslich die 14. bis 17. Passage durch den Hund- bezw. Rattenorganismus darstellte, wurden in Sokodé 36 Rinder vorbehandelt. Innerhalb eines Monats wurde diesen Thieren 2 bis 3 Mal Peritoneal-Exsudat von den Passage-Hunden eingespritzt in Mengen von 1 bis 10 ccm. Diese Vorbehandlung hat folgendes Resultat gehabt.

2. 19 Rinder waren in Sokodé stehen geblieben. Von diesen gingen zwei ein an Krankheiten, deren Natur nicht näher ermittelt werden konnte. Wenn man diese Verluste auf die Rechnung der Impfung setzt, so giebt das einen Coëffizienten von 10·5 Procent. Das später angewandte Verfahren giebt noch etwas bessere Resultate. Für den eingeborenen Viehzüchter würden solche Verluste nicht viel bedeuten, da er Thiere, an welchen er die ersten Anzeichen von Krankheit bemerkt, auf dem Markt ohne weiteres an den Schlächter zu verkaufen gewohnt ist.

3. Von diesen Rindern untersuchte ich 11 Monate nach Abschluss der Vorbehandlung acht darauf, ob sie noch Parasiten im Blute beherbergten (10 ccm Blut Hunden in die Bauchhöhle gespritzt). Vier Versuche fielen positiv, vier negativ aus. Sämmtliche Rinder zeigten keinerlei Andeutungen von Kranksein.

Die Parasiten halten sich demnach manchmal viele Monate lang im Blute; die zum Zweck der künstlichen Immunisirung mit lebenden Parasiten vorbehandelten Rinder können also (bis zu 50 Procent, siehe auch unter 5.) Parasitenträger bleiben und zur Weiterverbreitung der Seuche Anlass geben. An dieser wichtigen These Koch's ist nicht zu rütteln, sie gilt auch für andere Epizootien (z. B. Küstenfieber, Texasfieber). Zur Prüfung des Parasitengehaltes des Blutes wurden in diesem Falle nur 10 ccm verwandt. Diese Dosis ist gewiss zu klein um zu beweisen, dass in der That keine Parasiten mehr im circulirenden Blute vorhanden waren. Ausserdem wissen wir nicht, ob nicht vielleicht die Parasiten sich in irgend einer Form in den Organen eines solchen Thieres halten und nur gelegentlich im Trypanosomenstadium in grösseren Mengen in das periphere Blut verschwemmt werden.

Immerhin geht aus diesen Uebertragungsversuchen hervor, dass die Infection mit Parasiten, welche durch Thierpassagen beeinflusst sind, ent-



weder ganz ausheilen oder sich doch so sehr der Heilung nähern kann, dass in beträchtlichen Mengen (10 ccm) peripheren Blutes sich keine Trypanosomen mehr finden.

4. Acht Ochsen, nach der unter 1. besprochenen Methode vorbehandelt, wurden sofort nach Beendigung der Einspritzungen (August 1902) nach dem Süden transportirt und während der nächsten Monate auf der Versuchsplantage in Tove und auf dem Wege zur Küste nach Lome zum Ziehen verwandt. Alle diese Thiere sind im Laufe der nächsten Monate eingegangen. Die Thiere wurden nicht überarbeitet, wie mir der Leiter der Plantage versicherte, aber man war genöthigt, ihnen auf dem Wege nach Lome von der schwarzen Brühe, welche man dort als „Wasser“ zu bezeichnen pflegte, zu trinken zu geben. Alle Thiere haben auch mehr oder weniger starke Darmerkrankungen gezeigt, doch sind sie wohl nicht daran, sondern an Nagana eingegangen.

5. Gleichzeitig mit den unter 4. erwähnten Rindern gingen 9 Rinder nach Atakpame, welche gleich jenen vorbehandelt worden waren. Mit ihnen sandte ich 6 Controlrinder.[1]

Von diesen 9 Rindern gingen 5 (55·5 Procent) zu Grunde; ob alle an Nagana, konnte nicht festgestellt werden. Von den 6 Controlrindern blieb nur eines am Leben, es erwies sich später als mit Nagana inficirt.

Die Nagana der Rinder verläuft ausgesprochen chronisch und es ist erwiesen, dass die Parasiten keine Stoffe ausscheiden, welche, etwa wie die Bakterientoxine, eine heftige Wirkung auf den Organismus entfalten. Wenn der Körper des Rindes überhaupt im Stande ist, die eingeführten Parasiten zu vernichten, so sind seine Schutzstoffe jedenfalls nur schwach wirksam und werden nur langsam gebildet. Daraus erklären sich auch die Verluste in Atakpame und Tove: die Thiere sind der natürlichen Infection durch den Stich der Fliege viel zu früh ausgesetzt worden, noch ehe sich eine genügende Widerstandsfähigkeit ausgebildet hatte. Wer ein „Fliegenland“ durchreist hat, weiss, dass kein Stück Vieh passiren kann, ohne unzählige Male von Tsetsefliegen gestochen zu werden. Die unter 1. geschilderte Vorbehandlung genügt also nur in wenigen Fällen (23 Procent), um schon in wenigen Tagen so viel Schutz zu verleihen, dass die Thiere, der natürlichen Infection ausgesetzt, nicht mehr an der Krankheit eingehen.

[1] Atakpame ist berüchtigt, weil alles Vieh, das von auswärts eingeführt wird, dort zu Grunde geht. Gerade die Verluste, welche die Station Atakpame an Vieh und Pferden hatte, liessen eine Bekämpfung der Seuche nothwendig erscheinen. Selbst die Eingeborenen haben durch Schaden gelernt, sich nicht verleiten zu lassen, das schöne Vieh, welches vom Norden gelegentlich durchgetrieben wird, zu kaufen.



Es besteht in dieser Beziehung eine nahe Verwandtschaft mit anderen durch Protozoën hervorgerufenen Krankheiten, z. B. den Piroplasmosen der Rinder. Bei der Hämoglobinurie der Rinder (Texasfieber) und beim Küstenfieber in Rhodesia werden die Erreger im Stoffwechsel des Rindes nicht abgetödtet, sondern es kommt nur zu einer Abschwächung, zu einer „labilen Infection“, bei welcher es nur eines äusseren Anlasses bedarf (z. B. der Impfung gegen Rinderpest), um das Gleichgewicht zwischen Wirth und Parasit zu stören und ein Aufflammen der Erkrankung zu veranlassen. Obwohl diese Erkrankungen meist sehr acut und oft in kurzer Zeit tödtlich verlaufen, ist trotzdem bei Fällen, welche zur Heilung kommen, die reactive Bildung von parasiticiden Substanzen eine so geringe, dass diese nicht einmal im Stande sind, die Lebensbedingungen für die Parasiten im Blute so weit zu verschlechtern, dass diese sich nicht mehr halten und zu Grunde gehen müssen.

Der Unterschied zwischen den Erfahrungen von Tove und Atakpame kann wohl nur auf die ungünstigeren Lebensverhältnisse (körperliche Anstrengung, Darmerkrankungen durch schlechtes Trinkwasser) zurückgeführt werden. Dass diese Thiere etwa einen besonders virulenten „fly-belt“ (so nennt man, wie Bruce erzählt, die gefürchteten Streifen Landes, in welchen die Tsetsefliege haust und ihre Opfer sucht) passirt hätten, ist deshalb nicht wahrscheinlich, weil einzelne von den Thieren sehr lange tsetsekrank waren, ehe sie eingingen.

6. Diejenigen nach 1. vorbehandelten Thiere, welche in Atakpame am Leben geblieben waren, sind seitdem auf mehreren Märschen (von Atakpame nach Sokodé und von Sokodé zur Küste (Plantage Kpeme), der natürlichen Infection durch die Tsetsefliege vielfach ausgesetzt gewesen: 1 Kuh ist später in Kpeme an Nagana eingegangen, die 3 übrigen Thiere stehen noch jetzt, 3 Jahre nach der ersten Behandlung, in Kpeme und sind gesund.

7. Von den nach 1. behandelten Rindern schickte ich 18 Stück von Sokodé nach der Küste, 14 Monate nach der Vorbehandlung. Auf diesem Marsch durchquerte der Transport Strecken, in welchen bisher Pferde sich so gut wie ausnahmslos eine tödtliche Tsetseinfection geholt hatten. Von diesen Thieren gingen innerhalb der nächsten Monate zwei wahrscheinlich an Nagana zu Grunde (Parasiten wurden kurz nach dem Eintreffen an der Küste in den Blutpräparaten gefunden). Ob diese beiden Verluste noch auf die künstliche Infection im Juli 1902 zurückzuführen sind, oder ob diese Thiere auf dem Transport neu inficirt wurden, lässt sich natürlich nicht sagen. — Ein Rind ging an Aufblähung ein. Zwei weitere von den vorbehandelten Thieren erwiesen sich später als naganakrank, haben sich aber seitdem wieder erholt. Alle übrigen blieben

dauernd gesund. Die an sämmtlichen Thieren nach ihrem Eintreffen an der Küste vorgenommenen Blutüberimpfungen auf Ratten erwiesen sich später als nicht beweiskräftig, da zu geringe Mengen von Blut verimpft worden waren. Ich übertrug später immer Mengen von 5 bis 9 ccm auf je eine weisse oder bunte Ratte.

8. Am 11. VI. 04 wurden drei Kühe (XI, XXIII, XXV) zum zweiten Male (siehe unter 1.) behandelt mit Trypanosomen, welche von einem spontan erkrankten Pferde stammten und einmal auf einen Hund übertragen worden waren. Das Pferd war seit einigen Wochen an typischer Nagana erkrankt, ebenso war der Hund, als er getödtet wurde, schwer krank. Der so erhaltene Stamm war mässig virulent, denn Passage-Hund 2 und 3 gingen nach 27 bezw. 22 Tagen ein.[1] Die Rinder zeigten keinerlei äusserlich erkennbare Krankheitserscheinungen (die Temperaturen konnten nicht gemessen werden, weil ich damals keine geeigneten Hülfskräfte hatte). Einen Monat später (14. VII. 04) wurde nur eine von drei Controlratten durch 5 ccm Blut (von XXV) inficirt. Am 29. VIII. 04 wurden diese Thiere nach Topli, einer in der Flussniederung des Monu gelegenen Zollstation getrieben, auf welcher früher niemals Vieh hatte gehalten werden können. Am 13. IX. kehrten die Thiere von dort nach Kpeme zurück. 5 bezw. 10 ccm Blut von den Thieren, am selben Tage entnommen, waren nicht im Stande, die Krankheit auf Ratten zu übertragen, dagegen hat eine auf meine Bitte durch den Kaiserl. Regierungsarzt Dr. Külz in Klein-Popo im März 1905 vorgenommene Controlimpfung grösserer Mengen von Blut (40 ccm) auf Hunde ergeben, dass ein Thier (Nr. XI) noch Parasiten im Blute beherbergte, ohne dass jedoch ein Zeichen von Krankheit an ihm zu sehen war. Bei den anderen zwei Rindern fiel diese Probe, welche allen Anforderungen, die auf Grund unserer augenblicklichen Kenntniss über Nagana gestellt werden können, genügen dürfte, negativ aus.

In dem einen Falle (XI) ist es nicht zu entscheiden, ob die Parasiten von der letzten Injection mit lebenden Trypanosomen (11. VI. 04) oder von einer neuen Infection durch Fliegenstich herstammen. Praktisch wichtig ist, dass das Thier 7 Monate, nachdem es der Gefahr der natürlichen Infection ausgesetzt worden war, nicht das geringste Krankheitssymptom zeigte.

Die Annahme, dass von den drei Thieren nur eins von inficirten Tsetsefliegen gestochen worden sei, die anderen aber gänzlich verschont

[1] Der von Koch zu dem Eingangs erwähnten Versuch verwendete Stamm tödtete Hunde in 19 bis 42 Tagen, der von mir zu Passagen (siehe unter 1.) verwendete Stamm in 9 bis 17 Tagen, nach der 43. Passage in 17 bis 19 Tagen.



geblieben seien, hat schon an und für sich wenig Wahrscheinlichkeit für sich. Auch spricht der unter 11. mitgetheilte Versuch für die hohe Infectiosität dieses Tsetsegürtels dicht hinter der Lagune.

Es gäbe noch eine andere Art, den Beweis für die Immunität von Thieren gegen Nagana zu führen, dadurch nämlich, dass man — den Versuchen Koch's mit Küstenfieber folgend — Glossinen, welche an naganakranken Thieren gesogen haben, Gelegenheit gäbe, die zu prüfenden Thiere zu stechen. Allein dazu sind erstens unsere Kenntnisse über die Uebertragung durch den Stich der Fliege noch zu wenig genaue, und weiterhin hat sich bei den Versuchen mit Malaria und den Hämosporidien der Vögel ergeben, dass immer nur in einer beschränkten Anzahl der Mosquitos, welche Blut gesogen haben, sich die Blutparasiten weiter entwickeln. Ginge ein Thier aus einer solchen Probe, ohne inficirt zu werden, hervor, so wäre immer noch der Einwand möglich, dass gerade in diesen Tsetsefliegen eben keine Infectionskeime zur Entwickelung gelangt waren. Ich kenne die Blutgier der Tsetsefliegen aus eigener schmerzlicher Erfahrung und bin sicher, dass ein Thier, welches Stellen passirt hat, wie sie in grosser Zahl entlang den von meinen Versuchsthieren begangenen Wegen liegen, sicher Dutzende von Malen von Glossinen gestochen wurde; und unter diesen vielen Fliegen waren ohne Zweifel auch solche, welche die Krankheit übertragen konnten. Der Versuch in der Natur ist ganz gewiss der sicherste. Bei Kuh XI waren mehr als 10 ccm Blut nöthig, um einen Hund zu inficiren. Wenn Tsetsefliegen von einem solchen Thier Blut saugen, so ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass sie damit auch Parasiten aufnehmen, und ausserdem dürften sich auch nicht alle diese Parasiten in der Fliege weiter entwickeln. Die bisherigen gelungenen Uebertragungsversuche durch Fliegen sind mit sehr parasitenreichem Blute angestellt worden.

Versuch 8 beweist Folgendes:

a) Unter gewissen Umständen kann die künstliche Infection der Rinder mit virulenten Nagana-Parasiten ausheilen. Für die vorliegenden beiden Fälle wurde die Heilung 9 bezw. 7 Monate nach der letzten Infection mit Trypanosomen, bezw. nach dem letzten gelungenen Nachweis von Parasiten im Blut, erwiesen.

b) Rinder, in der oben geschilderten Weise vorbehandelt, können auch der natürlichen Infection in Tsetsegegenden widerstehen: die Keime, welche ihnen durch Stiche der Fliege eingeimpft werden, kommen entweder gar nicht zur Entwickelung (XXIII, XXV), oder sie sind nicht im Stande, das Thier krank zu machen (XI).

Wenn auch die Ansicht Koch's, dass ein Immunisirungsverfahren, welches mit lebenden Trypanosomen arbeitet, stets neue Parasitenträger



schaffe, zweifellos richtig ist und u. A. auch durch den einen der eben erwähnten Fälle gestützt wird, so liefern doch die zwei anderen Fälle den Beweis, dass es unter Umständen auch möglich ist, vollkommene Heilung zu erzielen, ohne dass die Thiere noch weiter Parasiten beherbergen. Ob dies bei dem Rind Nr. XI z. B. durch eine dritte Injection zu erreichen gewesen wäre, habe ich nicht mehr prüfen können. Weitere Versuche wären nothwendig, um genau das Zustandekommen der Heilung zu erforschen und dementsprechend den Gang der Vorbehandlung zu modificiren.

9. Eine Kuh (XLVI) hatte sich auf dem Marsche nach Topli (s. unter 8. und 11.) spontan inficirt, sie war zur Zeit des Versuches deutlich krank: Parasiten im frischen Blutpräparat nachgewiesen. Mit je 5 ccm Blut von diesem Thiere wurden drei von den nach 1. vorbehandelten Rindern neuerdings inficirt (4. VII. 04). Am 20. VII. 1904 fielen Uebertragungen von Blut der geimpften drei Thiere auf Ratten positiv aus. Am 5. bezw. 13. IX. 04 waren durch die gleichen Controlimpfungen nur mehr bei einem Thiere (X) Parasiten im Blut nachweisbar, bei einer dritten Blutentnahme am 24. XI. gelang die Infection der Ratte in keinem Falle. Die späteren Impfungen von 30 bis 40 ccm Blut auf Hunde am 31. III. 05 fielen ebenfalls negativ aus. — Eine nothwendige Reise in das Hinterland verhinderte mich, diese Thiere gleichfalls der natürlichen Infection durch die Tsetsefliege auszusetzen. Dieser Versuch ist deshalb interessant, weil hier die Parasiten, welche von einer natürlich erkrankten Kuh stammten, gleichfalls innerhalb weniger als 5 Monate so sehr reducirt waren, dass in mehreren Cubikcentimetern keine Parasiten mehr vorhanden und dass sie innerhalb 9 Monate gänzlich verschwunden waren.

10. Zwei Kälber, in Sokodé von vorbehandelten Kühen geworfen, aber selbst nicht vorbehandelt, waren mit dem Transport im October-November 1903 nach der Küste gegangen und dort prächtig gediehen. Diese beiden Kälber, unter 2 Jahren, waren ebenso inficirt worden wie die unter 9. erwähnten drei Kühe (4. VII. 04), und auch bei ihnen war diese Einspritzung von Erfolg gewesen (Uebertragung von Blut auf Ratten am 20. VII. 04 positiv). Am 5. IX. 04, 24. XI. 04 und 31. III. 05 aber war das Blut parasitenfrei befunden worden (siehe die vorhergehenden Versuche).

Dieser Versuch ist nicht ganz rein, weil die Thiere sich vielleicht auf dem Wege zur Küste bereits durch Fliegenstiche inficirt hatten. Immerhin geht daraus hervor, dass Kälber gegenüber einer künstlichen Infection nicht empfindlicher sind als erwachsene Thiere, vielleicht sogar eine erhöhte Widerstandsfähigkeit besitzen. Es ist daher zu empfehlen, eine Immunisirung schon in der Jugend vorzunehmen.



11. Es galt festzustellen, ob die Gegend von Topli wirklich für Rinder so sehr gefährlich sei. Wenn ja, so konnten Thiere zur Prüfung ihrer Immunität dahin gebracht werden. Wenn nein, so hätte man auch das Gebiet nördlich der Lagune als Weideland verwerthen können.

Sechs Rinder wurden am 30. V. 04 nach Topli geschickt und kehrten am 27. VI. 04 von dort zurück. Es waren darunter zwei Kühe, Nr. III und VIII, welche seiner Zeit zum Versuch in Atakpame (siehe unter 5.) verwandt worden waren; ein Rind, Nr. XXXVII, welches nach 1. vorbehandelt, darauf in Sokodé geblieben war, ein Rind, Nr. XLVI, welches, ohne vorbehandelt worden zu sein, aus Sokodé an die Küste gekommen war, endlich zwei in Kpeme von vorbehandelten Kühen geworfene Kälber, Nr. 67 und 68. Ehe die Thiere abgingen, übertrug ich noch je 5 ccm Blut dieser Thiere auf Ratten, ohne Erfolg. Wenn also ein oder das andere Thier Parasiten beherbergte, so war die Infection jedenfalls in einem latenten Stadium. Sofort nach der Rückkehr aus Topli wurde derselbe Versuch wiederholt: nur eine Kuh (der kleinen, vielleicht etwas weniger empfindlichen einheimischen Rasse) war frei von Parasiten, bei allen übrigen ging die Infection bei den Ratten an. Ich glaube nicht fehl zu gehen, wenn ich annehme, dass diese Thiere sich auf dem Marsch nach Topli und zurück inficirt haben. Ein Kalb, Nr. 67, ging bereits am 9. VII. 04, also etwa 6 Wochen nachdem es zum ersten Male der Infectionsgefahr ausgesetzt worden war, an Nagana zu Grunde; eine alte, ausserdem an einer Eiterung an einem abgebrochenen Horn leidende Kuh, Nr. VIII, folgte ihm am 20. VIII. 04. Es sind dieses die acutesten Fälle, welche ich je bei Rindern sah. Die dritte vorbehandelte Kuh, Nr. XXXVII, erwies sich noch am 31. III. 05 als tsetsekrank, ebenso die eine nicht vorbehandelte Kuh, Nr. XLVI. Das überlebende Kalb dagegen ergab bei der Ueberimpfung von ca. 10 ccm Blut auf eine Ratte am 24. XI. 04, also nach 5 Monaten, keine Infection, ebenso fiel auch die Impfung von 30 ccm Blut am 31. III. 05 auf einen Hund negativ aus.

Daraus ergiebt sich:

a) Dass die Gegend unmittelbar nördlich der Lagune stark mit Tsetsekrankheit durchseucht ist. In dieser Gegend giebt es kein Vieh, und die grossen Antilopen sind wegen der ziemlich dichten Bevölkerung jedenfalls ausserordentlich selten. Es macht diese Beobachtung immerhin wahrscheinlich, dass es nicht allein die grossen Antilopen sind, welche den Keim der Nagana beherbergen. Zehn kleine Antilopen, im Sokodébezirk gefangen, waren frei von Parasiten (Uebertragung von Blut auf Hunde). Bruce hat ja auch bei einer Hyäne, also einem Carnivoren, Nagana nachgewiesen, und vielleicht giebt es noch mehrere Wirthe für den Nagana-



parasiten. Eine planmässige Ausrottung der frei lebenden Wirthe des Trypanosoma Brucei müsste jedenfalls damit rechnen.

b) Wenn man erwägt, dass Kalb 67 7 Wochen, Kuh VIII etwa 8 Wochen nach der Infection durch den Stich der Fliege zu Grunde gingen, Kuh XXVII und XLVI dagegen noch 10 Monate später am Leben und krank waren, dass endlich bei Kalb 68 die Infection innerhalb von 10 Monaten ausgeheilt ist, so wird man unwillkürlich dazu hingedrängt, bei der Spontaninfection eine ungleiche Virulenz der einzelnen Stämme anzunehmen. Wie sehr dieser Umstand auf die Erreichung des Zieles, Pferde, Rinder und Esel gegenüber der Nagana zu schützen, hemmend einwirken muss, liegt auf der Hand.

Aus der Zahl meiner Beobachtungen möchte ich hier nur noch diejenigen anführen, welche mir geeignet scheinen, auf den Gang weiterer Untersuchungen Einfluss zu gewinnen, bezw. zu Nachprüfungen auffordern.

12. Koch theilte in seinem Vortrag: „Ueber die Trypanosomenkrankheiten" einen Fall von Nagana bei einer Stute aus Togo mit, welche anscheinend vollkommen gesund war, deren Blut aber, in Mengen von 20 ccm auf Hunde übertragen, diese inficirte.[1] In einer ganzen Reihe von Pferden, welche schon seit langer Zeit im Lande sind und von mir daraufhin untersucht wurden, ob ihr Blut vielleicht einige wenige Parasiten enthielte, habe ich deren nur zwei gefunden.

Nr. 256, „Männe", ein kräftiges, mittelgrosses Haussapferd, war seit mehr als einem Jahre im Lande, immer leistungsfähig. Zwei Hunde, mit dem Blute (Menge? sicher nicht über 10 ccm) am 26. VI. 02 intraperitoneal inficirt, wiesen erst nach 10 bis 15 Tagen spärliche Parasiten im Peritoneal-Exsudate auf. Das Blut des Pferdes enthielt also ohne Zweifel nur sehr wenige Parasiten. Leider wurde der weitere Verlauf der Krankheit nicht abgewartet, sondern die Hunde zu anderen Versuchen getödtet. Ausserdem verimpfte ich Blut von Pferd 256 auf ein an Ort und Stelle geborenes Pferd, Nr. 308, das sicher frei von Nagana war (Controle durch Impfung eines Hundes). Nach 11 Tagen traten spärliche Parasiten in dessen Blut auf, und es ging nach meiner Abreise innerhalb der nächsten 4 Monate, also etwa dem gewöhnlichen Verlauf entsprechend, zu Grunde. Daraus geht hervor, dass das Blut eines solchen „latent" naganakranken Pferdes deshalb nicht avirulent zu sein braucht. Das Pferd „Männe" selbst ging, nachdem es mehrfach gute Dienste getan hatte, noch im Laufe der nächsten 12 Monate nach meinen Untersuchungen unter den

[1] Siehe hierzu auch Martini, *diese Zeitschrift*.

zweifellosen Erscheinungen der Nagana in Atakpame zu Grunde. Ein solches latent krankes Thier ist also nicht immun.[1]

Bei einem zweiten kleinen, in der Nähe von Sokodé geborenen Pferdchen hatte ich im Dezember 1901 Parasiten mikroskopisch im Blute gefunden, obwohl das Thier ganz munter war. Als ich im Juni 1902 wieder nach Sokodé kam, liess ich es dort hinbringen; es war nicht das geringste Krankheitszeichen an ihm zu sehen. Trotzdem war sein Blut (14. VII. 02) für einen Hund infectiös. Um die Widerstandskraft dieses Pferdes zu prüfen, erhielt es Blut von der vierten Passage durch Rinder subcutan: es ist dieser Infection nach meiner Abreise erlegen.[2]

13. Ziegen — wenigstens die Togoziegen der kurzbeinigen plumpen Rasse — sind sehr widerstandsfähig gegen Nagana und würden sich zu Versuchen, bei welchen es sich um solche resistente Versuchsthiere handelt, besonders eignen.

14. Im Jahre 1901 impfte ich an der Küste einen Haussa-Esel mit Blut von einem spontan erkrankten Pferd. Dieses Thier ging erst nach einem mehrere Monate dauernden Siechtum zu Grunde. Im Juni 1902 legte ich in Sokodé von einem spontan erkrankten Esel eine Serie von Eselpassagen an: Die fünf Passageesel gingen innerhalb 11 bis 18 Tagen ein. Die Rasse des erstgenannten Esels war die gleiche wie der in Sokodé inficirten. Diese bedeutende Differenz kann wohl nur durch einen wesentlichen Unterschied in der Virulenz der Parasiten in beiden Fällen erklärt werden.

15. Zwischen der Schwere der Erkrankung, der Zahl der Parasiten im Blute und der parasitentötenden (agglomerirenden) Eigenschaften des Blutserums konnte ich keinen Parallelismus nachweisen. Es scheint hier vielmehr ein ganz individuelles Phänomen vorzuliegen. In einem Blute, dessen Serum die Parasiten in energischer Weise abtödtet, circuliren trotzdem virulente Parasiten. Ein solches Serum hat keine heilende Wirkung.

[1] Siehe **Martini**, a. a. O.

[2] Hier möge auch eine Beobachtung Erwähnung finden, welche eine grosse Anzahl von Versuchen mit Hunden vollkommen entwerthet hat: die Naganaparasiten können nämlich auch direct von Thier zu Thier übertragen werden. Ich war gezwungen, eine grosse Zahl von Hunden zu halten, und musste sie alle zusammen in einen grossen Laufkäfig sperren. Durch Bisswunden, durch eine Räude, welche sich an den Ohren der Thiere festsetzte und keinen verschonte, durch die massenhaften gewöhnlichen Fliegen, vielleicht auch durch Stomoxys und Glossinen kamen mehrfach spontane Infectionen vor bei Hunden, welche gar nicht im Versuch waren, aber im grossen Käfig bei den Inficirten lebten. Ich musste deshalb die Hunde wiederum einzeln und weit von einander entfernt an Ketten halten, worunter die an Freiheit gewohnten Thiere schwer litten.



16. Versuche, die Parasiten im Peritonealexsudat von Hunden durch Erwärmen auf 45 bis 48° abzutödten und damit zu immunisiren, ergaben keine constanten Resultate.

17. Bei einem Kalb (Nr. 67, s. unter 11.), welches der Spontaninfection schon innerhalb 6 Wochen erlag, fanden sich Trypanosomen, welche sich von den gewöhnlichen Naganaparasiten durch ihre eigenthümliche Bewegungsart zu unterscheiden schienen; sie eilten auf ihrer fast geradlinigen Bahn mit wackelnden oder zitternden Bewegungen durch das Gesichtsfeld. Solche Art der Bewegung hatte mir Oberstabsarzt Dr. Ziemann in Duala an Trypanosomen aus dem Blut von Schafen demonstrirt, die er als Trypanosoma vivax bezeichnet, und ich hatte derartige Parasiten mehrfach bei einheimischen Schafen in Togo wiedergefunden. Eine Ratte, welche mit Blut von diesem Kalb 10 Tage vor dessen Tode geimpft worden war, ging nach 20 Tagen an Nagana zu Grunde; das Blut war also nicht ungewöhnlich virulent, und ich finde bei dieser Ratte nichts über die Bewegung der Parasiten notirt. Mit dem Blute des sterbenden Kalbes wurde ein Togoschaf geimpft. 10 Tage später enthielt das Blut dieses Thieres mässig viele Parasiten, welche sich ganz in der für das Trypanosoma vivax charakteristischen Art bewegten. Leider verlor ich später dieses Thier aus dem Auge, es muss wohl in meiner Abwesenheit versehentlich geschlachtet worden sein. Ein kleines Kalb, mit dem Blute dieses Schafes behandelt (Nr. 760), erkrankte an „Trypanosoma vivax" und ging 4 Wochen nach der Impfung zu Grunde. Eine Ratte jedoch, von diesem Kalb aus geimpft, zeigte in ihrem Blut massenhaft Trypanosomen, welche wieder die für Naganaparasiten eigenthümliche Bewegung (lebhaftes Schlängeln an Ort und Stelle, aber nur geringe Bewegung vom Orte) aufwiesen, aber in keiner Weise an Trypanosoma vivax erinnerten. Die Ratte lebte 13 Tage, ehe sie gelegentlich meiner Abreise nach dem Innern getödtet werden musste; eine besonders gesteigerte Virulenz für die Ratte war also auch hier nicht zu constatiren. Nach diesen Befunden, welche ich erst nach dem Erscheinen der letzten Arbeit Ziemann's[1] zusammenstellte, bin ich vorläufig noch genöthigt, Trypanosoma vivax für den Parasiten der Nagana zu halten, der je nach dem Organismus (Schaf oder Kalb einerseits, Ratte andererseits) eine verschiedene Beweglichkeit zeigt. Allerdings ist auffallend, dass ein Hund, mit 1 ccm Blut von einem spontan mit Trypanosoma vivax inficirten Schafe geimpft, nicht erkrankte, auch keine Parasiten im Blute zeigte.

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.*

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

Ueber die Reductasen der Kuhmilch.

Von

Dr. **E. Seligmann,**
Assistenten am Institut.

Frische, rohe Milch hat reducirende Eigenschaften; sie vermag Schwefel zu Schwefelwasserstoff zu reduciren, sie entfärbt Farbstoffe wie Indigo, Lackmus, Methylenblau. Durch Erhitzen über bestimmte Temperaturen hinaus verliert sie diese Fähigkeiten. Fermentgifte, wie Blausäure, Chloroform und andere hemmen die Reductionsvorgänge in ähnlicher Weise, wie sie die Thätigkeit anderer, bekannter Enzyme alteriren. Die reducirenden Fähigkeiten der Milch werden daher von einer Reihe von Forschern, besonders von Raudnitz[1] als Fermentthätigkeit präformirter Enzyme angesehen. Eine Bestätigung dieser Anschauung bietet in ihren Schlussfolgerungen die im vorigen Jahre erschienene Arbeit von Hecht[2] und zum Theil auch die noch jüngere Veröffentlichung Smidt's.[3] Im Gegensatz zu diesen vertritt Heffter[4] die Meinung, dass Bakterien, von denen reducirende Eigenschaften ja bekannt sind, auch hier das ursächliche Moment bilden.

Im Folgenden soll die Eigenschaft der rohen Kuhmilch erörtert werden, die sie befähigt, Methylenblau zu reduciren bezw. Schardinger's Reagens, eine Methylenblaulösung mit einem bestimmten Formalingehalt. Von Wichtigkeit für unsere Arbeiten waren besonders die schon erwähnten Untersuchungen von Hecht[2] und Smidt.[3] Hecht hat die reducirenden

---

[1] Z. B. *Ergebnisse der Physiologie.* 1903. Bd. II. — *Sammelreferate über die Arbeiten aus der Milchchemie.* 1902, 1903, 1904. Separata aus der *Monatsschrift für Kinderheilkunde.* Bd. I, II, III.

[2] *Archiv für Kinderheilkunde.* 1904. Bd. XXXVIII. S. 349.

[3] *Hygienische Rundschau.* 1904. Nr. 23.

[4] Hoffmeister's *Beiträge.* 1904. Bd. V. S. 213.



Eigenschaften der Frauenmilch untersucht, bei der es natürlich leichter ist, ein relativ keimfreies Versuchsmaterial zu erhalten. Seine Hauptergebnisse sind wesentlich folgende:

Impft man sterile Frauenmilch mit älterer, nicht sicher steriler Milch, so geht die Reduction beträchtlich schneller vor sich als in der sterilen Probe. Ebenso wirken in Bouillon wachsende Bakterien der sauren Milch. Ein Tropfen Chloroform hindert die Reduction beträchtlich. Sehr empfindlich wird die Reduction in normaler Frauenmilch verzögert unter dem Einfluss von Thymol, Toluol, Fluornatrium und Chloroform. Hecht spricht sich darüber folgendermaassen aus: „Dass aber besonders bei stark reducirenden Milchproben die Entfärbung doch zu Stande kommt, scheint mir für das Bestehen selbständiger, reducirender Kräfte in der Milch bei gehemmter Bakterienentwickelung zu sprechen. Die Beschränkung der reducirenden Energie durch die oben erwähnten Zusätze war ja vorauszusehen, da alle fermentativen Functionen durch dieselben eine Schädigung erfahren.“[1] Ebenso nahe hätte vielleicht der Schluss gelegen, die schwach reducirende Wirkung auf Bakterien zu beziehen, die der Wirkung des Antisepticums Stand gehalten haben; denn eine absolute Keimfreiheit wird durch sie kaum jemals erreicht. Ausserdem ist der fermentschädigende Charakter des Toluols und des Thymols ein so ausserordentlich geringer — benutzt man beide Körper doch häufig zur Unterscheidung von Bakterien und Ferment —, dass die starke Herabsetzung des Reductionsvermögens in der behandelten Milch sicher nicht auf diese Eigenschaften des Toluols und Thymols zu beziehen ist.

Die optimale Temperatur für den Reductionsvorgang liegt etwa bei 55° C.; das spricht nach Hecht gegen bakterielle Einflüsse. Die Vernichtungstemperatur liegt zwischen 60 und 80° für Frauenmilchreductase; für Kuhmilch erhielt Hecht in einigen Nebenversuchen widersprechende Resultate. Von dem Auftreten reducirender Substanzen bei energischeren Hitzeeinwirkungen, die Hecht streift, sehen wir hier ab, da sie sicherlich nichts mit den von uns studirten Vorgängen zu thun haben.

Entfettung der Milch durch Aetherextraction bedeutet eine schwere Schädigung der Reductionsfähigkeit; der Aetherextract selbst reducirt kaum, gleichwohl scheint eine einfache Hemmung der Reductasethätigkeit durch Aetherzusatz nach Hecht nicht annehmbar. Eigene Versuche mit Aetherzusatz lassen uns annehmen, dass der Aether allein durch seine bakterienfeindliche Wirkung schädigend auf die Reductionen einwirkt.

Ueber den Zusammenhang zwischen katalysirender und reducirender Thätigkeit der Milch äussert Hecht sich folgendermaassen; „nur da, wo

[1] A. a. O.



die katalytische Energie enorm grob, lässt sich auch ein bedeutendes Reductionsvermögen erwarten und umgekehrt. Die kleinen Schwankungen machen aber Reduction und Katalyse nicht gesetzmässig parallel."[1]

Zum Schluss vertritt Hecht, gestützt zum Theil auf Versuche mit stark reducirendem Colostrum die Anschauung, das reducirende Agens sei ein ungeformtes Ferment. Einen strikten Beweis bringt er jedoch nirgends dafür bei, nur indirecte Schlüsse, wie den oben (S. 162) citirten.

In anderen Bahnen bewegt sich die Arbeit von Smidt[2], der, wie wir, mit Kuhmilch experimentirt hat. Nach ihm kommen für die Reduction von Methylenblau in die farblose Leukoverbindung in der Milch folgende Factoren in Betracht:

1. Milchzucker, sowie Substanzen, die erst beim Kochen in Wirksamkeit treten;

2. reducirende Fermente;

3. die reducirende Thätigkeit der Bakterien.

Der erste Factor kommt für uns nicht in Frage; der zweite bezieht sich auf die Reduction von Schardinger's Reagens (gesättigte, alkoholische Methylenblaulösung 5·0, Formalin 5·0, Aqua destillata 190·0). Der Formalinzusatz ist nach Smidt unbedingt nöthig zum Auftreten der Reaction; damit soll erwiesen sein, dass Bakterien nichts mit dieser Reaction zu thun haben können, „ganz abgesehen davon, dass eine so schnelle Reduction durch Bakterien in frischer Milch niemals stattfindet."[3] Die zwischen 70 und 80° liegende Vernichtungstemperatur spricht gleichfalls für Enzymthätigkeit.

Die Reductase oder „Aldehydkatalase", wie Smidt sie nennt, geht beim Centrifugiren in den Rahm über, ebenso wie die Superoxydase, das Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Ferment der Milch. Hierauf stützt Smidt die früher schon von Anderen[4] ausgesprochene Vermuthung, beide Fermente seien möglicher Weise identisch.

Der dritte Factor Smidt's, die reducirende Thätigkeit der Bakterien, stützt sich auf den Nachweis, dass die Reduction der Milch dem formalinfreien Methylenblau gegenüber beim Stehen zunimmt. Dieser Nachweis ist jedoch kein zwingender Beweis, da die Reactionsverhältnisse, die in frischer und älterer Milch doch sehr verschieden sind, möglicher Weise eine bestimmende Rolle spielen. Ferner fehlt die Controle an der Reduction

[1] A. a. O.
[2] A. a. O.
[3] A. a. O.
[4] Raudnitz, a. a. O.



des Schardinger'schen Reagens, deren Intensität, wie weiter unten gezeigt wird, in ganz ähnlichem Maasse beim Stehen der Milch zunimmt.

Unsere eigenen Versuche, welche wieder in der chemischen Abtheilung des Instituts für Infectionskrankheiten ausgeführt wurden, zerfallen in drei Abtheilungen:

1. Ueber die Annahme einer Identität von Superoxydase und Reductase.

Wir bezeichnen im Folgenden die reducirenden Fermente der Milch, gleichgültig, ob sie von Bakterien stammen oder echte, ungeformte Enzyme sind, als **Reductasen**. **Superoxydase** nennen wir den Körper, der der Milch die Fähigkeit verleiht, H_2O_2 in H_2O und O zu zerlegen. Wir haben früher[1] festgestellt, dass diese Eigenschaft der Milch im Wesentlichen von besonderen Bakterienarten (z. B. kleinste, Gelatine nicht verflüssigende Kokken) ausgeht. Würde sich ergeben, dass Superoxydase- und Reductasethätigkeit in genau gleicher Weise verlaufen und beeinflussbar sind, so wäre die Wahrscheinlichkeit, dass auch die reducirenden Körper der Milch Bakterien sind, eine sehr grosse.

Es wurden zuerst Versuche mit Antisepticis angestellt, in der gleichen Weise, wie ich sie früher[1] beschrieben habe. Angewandt wurden Thymol, Toluol, Chloroform, Aether, Formalin, Hexamethylentetramin. Eine vollkommene Abtödtung sämmtlicher Keime wurde in keinem Falle erreicht. Die Prüfung auf Superoxydase wurde in folgender, stets gleicher Weise vorgenommen: sterilisirte, graduirte Gährröhrchen wurden mit 25 ccm Milch und 0·5 ccm Perhydrol (Merck) beschickt und 1 Stunde im Brütschrank bei 37° gehalten. Damit ist zwar die Sauerstoffentwickelung häufig noch nicht ganz beendet; die entwickelte Gasmenge genügt aber zu Vergleichszwecken, auch quantitativer Natur, vollkommen. Ausserdem ergaben mehrfach angestellte Controlproben, dass nach 24 Stunden sich die Verhältnisszahlen zweier verglichener Proben kaum geändert haben. Auf Reductase wurde derart geprüft, dass 10 ccm Milch in ein steriles Reagensgläschen gefüllt und mit 10 Tropfen von Schardinger's Reagens (stets dieselbe Pipette zum Abtropfen) versetzt wurde. Darauf Umschütteln, Ueberschichten mit Paraffinum liquidum und 1stündiges Verweilen im Wasserbade, unter ständiger Controle des Entfärbungsprocesses.

Erklärung der Tabellen.

ø = nicht geprüft; — = Reduction tritt überhaupt nicht ein.

[1] *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. L.

Versuch vom 25. I. 1905.

A Rohmilch, B dieselbe Milch mit Toluol geschüttelt und überschichtet, C dieselbe Milch mit Aether überschichtet, D dieselbe Milch mit Formalin im Verhältniss 1 : 2000 versetzt.

Datum	A		B		C		D	
	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.
25. I.	ø	10	ø	ø	ø	ø	ø	ø
26. I.	5·5	5	1·0	9	0·6	9	0·6	14
27. I.	4·5	2	1·0	6	2·0	7·5	0·8	20
28. I.	5·0	2	1·5	10	1·0	12	1·3	—

Versuch vom 3. IV. 1905.

A Rohmilch, B dieselbe Milch (250^{ccm}) + $0·2^{grm}$ Thymol, C dieselbe Milch (250^{ccm}) + $0·1^{ccm}$ Formalin, D dieselbe Milch (250^{ccm}) + $200·0^{ccm}$ Aether.

Datum	A		B		C		D	
	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.
3. IV.	2·5	18	ø	ø	ø	ø	ø	ø
4. IV.	3·5	11	6·2	3·5	0·5	40	1·5	5
5. IV.	11·2	3	9·6	6	1·0	19	5·2	5
6. IV.	ø	ø	ø	ø	10·2	4	1·2	—

Versuch vom 7. IV. 1905.

A Rohmilch, B dieselbe Milch (500^{ccm}) mit Formalin 1 : 5000 versetzt, C dieselbe Milch (500^{ccm}) + 250^{ccm} Aether, D dieselbe Milch (500^{ccm}) + $1·0^{grm}$ Hexamethylentetramin.

Datum	A		B		C		D	
	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.	Sauer-stoff-Entw. in ccm	Reduc-tions-zeit in Min.
7. IV.	3·1	14	ø	ø	ø	ø	ø	ø
9. IV.	5·1	5	0·9	15	1·4	8	3·5	2·5
10. IV.	4·0	15	1·8	4	1·2	9	4·0	2
11. IV.	ø	ø	4·6	6	3·7	6	4·0	6

Aehnlich lauten andere Versuchsreihen: Dem höheren Zahlenwerth der Sauerstoffentwickelung entspricht bei derselben Milch auch die grössere Energie der reducirenden Kraft, in Minuten ausgedrückt die kleinere Zeitzahl. Im Grossen und Ganzen verlaufen also Reduction und Wasserstoffsuperoxydspaltung gleichartig, in dem Sinne, dass diejenige Milch gewöhnlich auch schneller reducirt, die die höhere Spaltungsintensität gegenüber Wasserstoffsuperoxyd besitzt. Im Einzelnen aber ist diese Uebereinstimmung grossen Schwankungen unterworfen, da mitunter der gleichen Sauerstoffentwickelung ganz verschiedene Reductionszeiten entsprechen; und umgekehrt, gleiche Reductionszeiten von sehr verschiedenen Zahlenwerthen der Sauerstoffentwickelung begleitet sind. So entspricht z. B. einer Reductionszeit von **6** Minuten, im 3. Protokoll, einmal eine Sauerstoffzahl von 4·0, dann von **4·6**, dann von **3·7**; im 2. Versuchsprotokoll von 9·6 und im 1. Protokoll von **1·0**. Einer Reductionszeit von **5** Minuten im 2. Protokoll steht am 1. Tage eine Sauerstoffmenge von 1·5 ccm, am 2. Tage (bei gleicher Reductionszeit) eine Menge von **5·2** ccm gegenüber. Umgekehrt entspricht einer Sauerstoffmenge von **4·0** ccm (3. Protokoll) einmal eine Reductionszeit von **2**, ein anderes Mal von 6 und ein drittes Mal von 15 Minuten.

Von absoluten Parallelvorgängen bei Katalyse und Reduction, wie man sie bei angenommener Identität des erregenden Momentes fordern müsste, kann also nicht die Rede sein. Nimmt man dagegen für die Reductasen auch Bakterienthätigkeit an — wir werden später dafür Beweise beibringen —, so kann man wohl sagen: starke Wasserstoffsuperoxydspaltung deutet, ebenso wie schnelle und energische Reductionskraft, auf hohen Bakteriengehalt der Milch hin; die gleichen Bakterien sind es aber jedenfalls nicht, die ausgesprochen katalysiren und die reduciren.

Wir haben aber noch einen zweiten Weg eingeschlagen, um die Nichtidentität der beiden Processe zu beweisen. Reiss[1] hat gezeigt, dass durch Centrifugiren erhaltener Rahm viel stärker Wasserstoffsuperoxyd zersetzt als Magermilch und selbst als die ursprüngliche Vollmilch. Er zeigte ferner, dass man dem Rahm den katalysirenden Körper durch Extraction mit Wasser entziehen und so eine wässerige Lösung des activen Princips erhalten kann. Die wässerige Lösung zersetzt sehr energisch Wasserstoffsuperoxyd. Es lag nahe, den gleichen Isolirungsversuch für die angeblich identische Reductase auszuführen.

300 ccm Milch werden 20 Minuten lang energisch centrifugirt; der Rahm wird abgehoben, mit destillirtem Wasser 1 Stunde lang geschüttelt

[1] *Zeitschrift für klin. Medicin.* 1905. Bd. XXXVII.



und centrifugirt, der wässerige Extract wird abgehebert und zum Theil filtrirt. (Unterschiede in der Reactionsfähigkeit zwischen filtrirter und unfiltrirter Lösung bestehen nicht.)

Die Prüfung auf Superoxydase und Reductase wurde genau, wie oben angegeben, ausgeführt.

Es entwickeln Sauerstoff aus Wasserstoffsuperoxyd:

Magermilch	1·2 ccm
Vollmilch	4·0 „
Rahm	7·3 „
Wässeriger Extract	12·0 „

Es reduciren Schardinger's Reagens:

Magermilch	in 22 Minuten
Vollmilch	„ 8 „
Rahm	„ 5 „
Wässeriger Extract	gar nicht.

Dasselbe Resultat erhielt ich in einer ganzen Reihe von Controlversuchen, die zum Theil auch an stark katalysirender Thymolmilch ausgeführt wurden. Der Rahm reducirt deutlich stärker als Voll- und Magermilch, giebt jedoch sein actives Princip nicht an Wasser oder physiologische Kochsalzlösung (auch damit wurden Versuche gemacht) ab, während die Superoxydase, wie Reiss gezeigt hat und unsere Versuche bestätigen, leicht vom Wasser gelöst wird.

Das Princip des Reiss'schen Isolirungsversuches beruht wahrscheinlich auf einer „Adsorption" der Superoxydasen durch die Fettkügelchen. Ein entsprechendes Resultat erzielt man, wenn man das Caseïn der Milch zur Gerinnung bringt und es abcentrifugirt. Der Caseïnniederschlag enthält Superoxdase und Reductase. Schüttelt man den Niederschlag mit destillirtem Wasser und centrifugirt wieder, so erhält man ein klares Extract, das energisch H_2O_2 zersetzt, jedoch keinerlei Reductionen auslöst. Das ist eine volle Bestätigung der obigen Versuche nach Reiss'scher Methode. In genau demselben Sinne fielen Versuche mit Kieselguhr aus, so dass man nunmehr mit Sicherheit sagen kann: Superoxydase und Reductase sind zwei durchaus von einander verschiedene und von einander trennbare Fermente. Ueber das eigentliche Wesen der Reductase giebt dies Verhalten noch keine Aufklärung.



2. Ueber die äusseren Formen der Methylenblaureduction.

Smidt[1] unterscheidet scharf zwischen zwei Formen der Methylenblaureduction in Milch. Die beiden Reactionsformen sind für ihn charakterisirt durch die Zusammensetzung der zu reducirenden Lösungen. Die eine Lösung besteht aus folgenden Componenten: gesättigte, alkoholische Methylenblaulösung 5·0, Aqua destillata 195·0. Diese Lösung wird häufig erst durch 1 Tag alte Milch reducirt; die Reduction beruht nach Smidt auf Bakterienthätigkeit. Die zweite Lösung besteht aus: gesättigte, alkoholische Methylenblaulösung 5·0, Formalin 5·0, Aqua destillata 190·0, und ist von Schardinger[2] angegeben, der sie benutzte, um erhitzte Milch von roher zu unterscheiden (daher Schardinger's Reagens). Diese Lösung wird auch von ganz frischer Milch in ziemlich kurzer Zeit reducirt, nach Smidt's und anderer Autoren Annahme durch Fermentthätigkeit. Die Anwesenheit des Formalins, die optimale Temperatur bei 55°, die Vernichtungstemperatur zwischen 70 und 80° sprechen nach den genannten Autoren gegen Bakterienthätigkeit.

Die Reductionen beider Lösungen gehen am besten bei Temperaturen zwischen 40 und 55° in Milch vor sich. Beide Reductionen werden durch Erhitzen der Milch auf 70 bis 80° aufgehoben. Die Einwände Smidt's müssten also auch für die Reduction der reinen Methylenblaulösung gelten.

Den Beweis für die Bakterienthätigkeit hat Smidt dadurch zu erbringen gesucht, dass er nachwies: je älter die Milch ist, um so energischer reducirt sie reine Methylenblaulösung. Vergleiche über das Verhalten der Schardinger'schen Reaction, die bei ihm fehlen, habe ich angestellt. Sie führten zu nachstehenden Ergebnissen (Versuchsanordnung genau wie oben):

Milch, gemolken am	25. I.	reducirt in	10	Minuten	Schardinger's	Reagens.
Dieselbe Milch „	26. I.	„ „	5	„	„	„
„ „ „	27. I.	„ „	2	„	„	„
„ „ „	28. I.	„ „	2	„	„	„
Milch, gemolken am	3. IV.	reducirt in	18	Minuten	Schardinger's	Reagens.
Dieselbe Milch „	4. IV.	„ „	11	„	„	„
„ „ „	5. IV.	„ „	3	„	„	„
Milch, gemolken am	7. IV.	reducirt in	14	Minuten	Schardinger's	Reagens.
Dieselbe Milch „	8. IV.	„ „	8	„	„	„
„ „ „	9. IV.	„ „	5	„	„	„
„ „ „	10. IV.	„ „	15	„	„	„

[1] A. a. O.

[2] *Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel.* 1902.



Milch, gemolken	am	14. IV.	reducirt	in	7	Minuten	Schardinger's Reagens.
Dieselbe Milch	„	15. IV. 8h V.	„	„	5	„	„ „
„ „	„	15. IV. 1h N.	„	„	4	„	„ „
„ „	„	16. IV.	„	„	10	„	„ „

Es zeigt sich also, dass die Reductionsenergie gegenüber dem Schardinger'schen Reagens in den ersten Tagen schnell zunimmt, genau wie für die Reduction der schwach alkoholischen Methylenblaulösung. Einige Male allerdings zeigte sich am 4. Untersuchungstage ein plötzliches Wiederabnehmen der Energie, das nicht ohne Weiteres verständlich ist, vielleicht aber mit der starken Vermehrung der Milchsäurebildner oder mit sonstigen biologisch-chemischen Vorgängen in der Milch im Zusammenhang steht.

Stellt man die Reductionszeiten einer Milch nach verschieden langem Stehen gegenüber reiner alkoholischer und gegenüber Formalin-Methylenblaulösung neben einander, so zeigt sich, dass am ersten Tage das Schardinger'sche Reagens schon ziemlich schnell reducirt wird, während die reine alkoholische Methylenblaulösung meist unverändert bleibt (s. unten). An den folgenden Tagen sind die Reductionszeiten für beide Lösungen erheblich kürzer geworden, für die reine alkoholische Methylenblaulösung in noch höherem Maasse als für die formalinhaltige. Dies Verhalten ändert sich meist nicht, oder es wird in einigen Fällen am Schluss des Versuches noch einmal zu Ungunsten der Schardinger'schen Reaction verschoben.

	reine Methylenblaulösung in Minuten	Schardinger's Reagens in Minuten
Milch, gemolken am 3. IV. reducirt	nicht	18
Dieselbe Milch „ 4. IV. „	22·5	11
„ „ „ 5. IV. „	1	3
Milch, gemolken am 7. IV. reducirt	nicht	14
Dieselbe Milch „ 8. IV. „	6	8
„ „ „ 9. IV. „	2	5
„ „ „ 10. IV. „	sofort	15
Milch, gemolken am 14. IV. reducirt . .	nicht	7
Dieselbe Milch „ 15. IV. 8h V. „ . .	3	5
„ „ „ 15. IV. 1h N. „ . .	1	4
„ „ „ 16. IV. „ . .	1	10

Der Verlauf der Reduction bei beiden Reagentien ist unter den oben geschilderten Versuchsbedingungen also ein sehr ähnlicher. Es galt zu untersuchen, ob Abänderungen der Bedingungen in gleicher Weise auf beide Fermentwirkungen von Einfluss sind. Es wurden wieder Versuche mit Antisepticis angestellt, die sich schon bei früheren Untersuchungen[1]

[1] A. a. O.



für das Studium von Ferment- bezw. Bakterienwirkungen als nützlich erwiesen hatten. Wir hatten früher[1] gelegentlich anderer Untersuchungen erwähnt, dass Formalin die Reductasethätigkeit der Milch stark hemmt, ohne uns seiner Zeit auf eine bestimmte Erklärung dieser Thatsache einzulassen. Damals wurden die Reductionsversuche nur mit reiner Methylenblaulösung angestellt. Von der Anwendung des Schardinger'-schen Reagens wurde abgesehen, da sein Formalingehalt möglicher Weise die Ergebnisse hätte undeutlich machen können. Nehmen wir die Reduction der formalinfreien Methylenblaulösung mit Smidt als auf Bakterienthätigkeit beruhend an, so ist die hemmende Wirkung des Formalins in der Formalinmilch als eine antibakterielle zu erklären, allerdings mit der Reserve, dass vielleicht die durch Formalinzusatz gesteigerten, oxydativen Vorgänge in der Milch[1] eine geringe, reducirende Kraft noch weiter verdecken. Denn in der That ist die Hemmung der Reductionen in Formalinmilch eine sehr auffällige, die die Wirkung anderer Antiseptica weit überschreitet, so dass hier höchstwahrscheinlich noch die oben erwähnten Veränderungen der oxydativen Eigenschaften mit im Spiele sind.

Die Versuche wurden jetzt, in Parallele zu den früheren Untersuchungen, mit Schardinger's Reagens wiederholt und ergaben ganz eindeutig, dass durch Antiseptica, besonders aber durch Formalin, die Reductionskraft der Milch gegen wässerige, wie gegen Formalinmethylenblaulösung in genau dem gleichen Maasse gehemmt wird.

Versuch vom 19. I. 1905.

		nach 5′	nach 10′	nach 15′	nach 30′
20. I.	10 ccm Rohmilch + 10 Tropf. Schardinger's Reagens . . .	entfärbt	—	—	—
	10 ccm Toluolmilch + 10 Tropf. Schardinger's Reagens . . .	blau	$^3/_4$ entfärbt	entfärbt	—
	10 ccm Formalinmilch + 10 Tropf. Schardinger's Reagens . . .	blau	blau	blau	blau

Versuch vom 3. IV. 1905.

	Reductionszeiten in Minuten am:							
	3. IV.		4. IV.		5. IV.		6. IV.	
	wässrige Lösung	Schardinger's Reagens	wässrige Lösung	Schardinger's Reagens	wässrige Lösung	Schardinger's Reagens	wässrige Lösung	Schardinger's Reagens
Rohmilch	—	18	22·5	11	1	3	0	0
Formalinmilch (1 : 2500)	—	18	—	40	48	19	4	4

[1] A. a. O.



Während Rohmilch mit dem Stehen eine continuirliche Zunahme der ?eductionsenergie beiden Lösungen gegenüber aufweist, zeigt Formalin-nilch, gleichfalls für beide Fälle, eine beträchtliche Behinderung, die ich erst nach Tagen, mit dem Nachlassen der desinfectorischen Wirk-amkeit, etwas ausgleicht.

Unter normalen, wie unter experimentell erzeugten Bedingungen eigen demnach beide Reductionsvorgänge ein durchaus ähnliches Ver-ıalten. Der einzige Unterschied besteht eigentlich nur in der Reactions-orm des ersten Tages, wo wässerige Methylenblaulösung sehr langsam, Schardinger's Reagens relativ schnell entfärbt wird. Wahrscheinlich pielt das Formalin hier für die Reductasen eine ähnliche Rolle wie das Vasserstoffsuperoxyd für die Oxydasen. Die Enzymthätigkeit ist, bei der elativen Keimarmuth frischer Milch, noch eine sehr geringe und lang-ame. Es tritt nun eine Beschleunigung der Enzymwirkung dadurch ein, ıass das Formalin selbst zur Ausübung der Reduction herangezogen wird. n ähnlicher Weise stellte sich auch Smidt den Vorgang der Reduction or, was ihn veranlasste, dem auslösenden Enzym den Namen „Aldehyd-atalase“ zu geben. Die Parallele mit dem Wasserstoffsuperoxyd geht ogar noch weiter; denn in ähnlichem Maasse, wie ein Ueberschuss an H_2O_2 für die Oxydasenthätigkeit schädlich ist, hindert ein Ueberschuss an 'ormalin die Reductasen. Diese Anschauung bleibt zu Recht bestehen, leichgültig, ob die wirksamen Fermente Bakterien oder Bakterienproducte der präformirte Milchenzyme sind. Nehmen wir mit Smidt an, dass ie Reduction der reinen, wässerigen Methylenblaulösung durch Bakterien usgelöst wird, so müssen wir, da unsere Versuche eine vollkommene leichstimmigkeit der beiden Reductionsformen, sowohl für die reine wie ür die formalinhaltige Methylenblaulösung, ergeben haben, auch für die ?eduction des Schardinger'schen Reagens dieselbe Quelle annehmen. Linen exacten Beweis für diese Annahme glauben wir im nächsten Capitel rbringen zu können.

3. Ueber die Herkunft der Reductasen.

Versuch vom 24. I. 1905.

200 ccm frischer Kuhmilch werden im Dampfkochtopf bei 100° 1 Stunde ang erhitzt.

100 ccm (A) werden nach dem Erkalten mit 2 Oesen saurer Milch geimpft;

100 ccm (B) werden ungeimpft steril aufbewahrt.

Beide Milchproben reduciren Methylenblau weder in wässe-iger noch in Formalinlösung.

25. I. (Nach 24 Stunden.)

10 ccm von A werden mit 10 Tropfen der reinen Methylenblaulösung ver-etzt und mit Paraffinum liquidum überschichtet. Wasserbad von 45 bis 50°.



10 ccm von B werden in gleicher Weise behandelt.

A ist nach 3 Minuten entfärbt, B ist nach 1 Stunde noch blau.

10 ccm von A werden mit 10 Tropfen des Schardinger'schen Reagens versetzt und mit Paraffinum liquidum überschichtet. Wasserbad von 45 bis 50°.

10 ccm von B werden in gleicher Weise behandelt.

A ist nach 1 Minute entfärbt, B ist nach 1 Stunde noch blau.

Der gleiche Reactionsausfall ergab sich in den nächsten 2 Tagen.

Dieser Versuch bedeutet: es gelingt, durch Erhitzen die Milch ihrer reducirenden Eigenschaften zu berauben. Der Verlust ist ein dauernder. Impft man die reactionslose Milch mit gut reagirender, älterer Milch, so tritt im Verlaufe eines Tages die reducirende Fähigkeit der sterilisirten Milch wieder auf und zwar in einer sehr energischen Form. Ein Unterschied in der Reduction des Schardinger'schen Reagens und der reinen Methylenblaulösung besteht nicht.

An eine Reactivirung des wirksamen, reducirenden Princips durch die Impfung ist nicht zu denken; vielmehr liegt der Schluss nahe, den auch Chick[1] bei gleicher Versuchsanordnung und entsprechendem Ergebniss für die Superoxydase gezogen hat: die sterilisirte Milch ist bakterienfrei und darum reactionslos; saure Milch enthält Bakterien; diese vermehren sich nach ihrer Einimpfung in die sterile Milch rapide und erzeugen ihrerseits reducirende Stoffe, die scheinbar der Milch angehören. Wir schliessen also aus unserem Versuch, im Verein mit den vorausgehenden Untersuchungsreihen, dass die Reductasen der Milch von Bakterien geliefert werden. Das gilt in gleicher Weise für die Reduction reiner Methylenblaulösung wie für die Reduction des Schardinger'schen Reagens. Der von Smidt[2] hierfür postulirte strenge Unterschied zwischen Bakterien- und Enzymwirkung kann nach diesen Versuchen nicht aufrecht erhalten werden.

Dagegen ist die Uebereinstimmung im Verhalten von Reductase und Superoxydase auch bei der Impfung wieder eine sehr auffällige, so dass wir versuchten, festzustellen, ob die gleichen Bakterien die Ursache der beiden Fermentationen bilden. Die früher isolirten, in physiologischer Kochsalzlösung autolysirten Kokken zersetzen H_2O_2 äusserst energisch, reduciren aber Methylenblau in keiner Form seiner Lösung. Impft man nun ein paar Oesen dieser Kokken in sterilisirte Milch, so erlangt die Milch in kurzer Zeit die sehr energische Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, ohne jedoch reducirende Eigenschaften anzunehmen. Am 3. Tage gewöhnlich, manchmal später, selten früher, reducirt sie plötzlich auch, zuerst ziemlich langsam, später schneller. Ein solcher Versuch gestaltete sich folgendermaassen:

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Bd. VII.

[2] A. a. O.



Versuch vom 26. IV. 1905.

Ein Liter Milch wird $^1/_2$ Stunde lang im Dampfkochtopf bei 100° erhitzt.
300 ccm werden unverändert steril aufbewahrt: A.
300 ccm werden mit 1 ccm der rohen Milch inficirt: B.
300 ccm werden mit 0·5 ccm Kokkenaufschwemmung inficirt: C.

	H_2O_2-Spaltung in ccm O_2	Reduction der wässr. Methylenblaulösung in Minuten	Reduction des Schardinger'schen Reagens in Minuten
		27. IV. 1905.	
A	—	—	—
B	0·2	$^1/_2$ Minute	$^1/_2$ Minute
C	7·4	—	—
		28. IV. 1905.	
A	—	—	—
B	4·0	$^1/_2$ Minute	1 Minute
C	11·6	5 Minuten	14 Minuten
		29. IV. 1905.	
A	—	—	—
B	geronnen, daher volumetrisch nicht bestimmbar	$^1/_2$ Minute	1 Minute
C	äusserst stürmisch, nach 3 Minuten: 25·0	$^1/_2$ „	1 „

Auf 100° erhitzte, nicht reducirende Milch hat also durch Zusatz id Vermehrung nicht reducirender Kokken ihr Reductionsvermögen eder erlangt. Das klingt im ersten Augenblick paradox, legt aber fort den Gedanken an Stoffwechselproducte der Bakterien, bezw. Abuproducte von Milchbestandtheilen, in erster Linie der Eiweisskörper ihe. Um einen Einblick in diese complicirten Verhältnisse ı gewinnen, war es angebracht, die Milch als Nährboden aufıgeben und leichter übersehbare, besser zu sterilisirende ährlösungen anzuwenden. Ehe ich aber zu diesem Theile meiner ntersuchungen übergehe, muss noch ein wichtiges, bakteriologisches sultat erwähnt werden.

Nach vielen vergeblichen Züchtungsversuchen, die auf Bouillon, latine, Agar und Caseïnnährböden angestellt wurden, gelang es uns, ıs einer sehr stark reducirenden Milch Bakterien zu isoliren, e in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, sowohl ine, wie Formalin-Methylenblaulösung reduciren. Sie stellen orphologisch kleine, dicke, plumpe Stäbchen dar, die Gelatine nicht rflüssigen und Milchzucker nur wenig angreifen; gegenüber Wasserstoff-

[1] A. a. O.

superoxyd besitzen sie ein nicht unbeträchtliches Spaltungsvermögen. Impft man diese Bakterien, an deren bakteriologischer Identificirung uns aus früher[1] erörterten Gründen vorläufig nichts gelegen war, in sterilisirte Milch oder Caseïnlösungen, so tritt sehr schnell ein energisches Reductionsvermögen in den Nährlösungen auf, das dem durch Impfung mit roher Milch erhaltenen noch überlegen ist.

Um nun einen Einblick in die chemischen Vorgänge zu gewinnen, die sich bei der Bildung der Reductase abspielen, wurden künstliche Nährböden von genau gekannter Zusammensetzung gewählt. Eine erste Versuchsreihe benutzte folgende Nährlösung:

Caseïn	6·0 grm
Sol. Natr. carbon.	4·0 ccm
Aqu. dest. ad.	200·0 „

Also eine Caseïnlösung, deren Concentration den Verhältnissen in der Milch Rechnung trägt. Der Zusatz von etwas kohlensaurem Natron dient lediglich zur Lösung des Caseïnpulvers. Von dieser Lösung wurden drei Kölbchen steril gefüllt und folgendermaassen behandelt:

Versuch vom 27. IV. 1905.

Kölbchen A: bleibt unbehandelt,
„ B: mit 2 Oesen roher Milch geimpft,
„ C: mit 1 Oese der katalysirenden, nicht reducirenden Kokken geimpft.

28. IV. 1905.

	O-Entwickelung in ccm	Reduction der wässr. Methylenblaulösung in Minuten	Reduction von Schardinger's Reagens in Minuten
A	—	—	—
B	16·0	1/4 Minute	1/4 Minute
C	8·1	—	—
	Nach 24 Stunden (am 29. IV. 1905):		
A	—	—	—
B	explosionsartig, nicht ablesbar[2]	sofort	1/4 Minute
C	12·3	—	—
	(Am 4. Tage, am 1. V. 1905):		
A	—	—	—
B	stürmisch } nicht ablesbar[2]	sofort	sofort
C	stürmisch } nicht ablesbar[2]	1/4 Minute	1/4 Minute

[1] A. a. O.

[2] Die Sauerstoffentwickelung ging so momentan und energisch vor sich, dass die Röhrchen in kürzester Zeit überliefen; daher musste auf eine volumetrische Bestimmung verzichtet werden.



Das Resultat dieses Versuches ist Folgendes: eine sterile Caseïnlösung erhält durch Einimpfen roher Milch sowohl stark reducirende als auch zugleich katalysirende Eigenschaften (Kölbchen B).

Ferner: eine sterile Caseïnlösung erhält durch Einimpfen katalysirender, nicht reducirender Bakterien sofort katalysirende, aber erst nach einigen Tagen auch reducirende Eigenschaften (Kölbchen C), ein Resultat, das den Ergebnissen der Milchversuche vollkommen entspricht: nicht reducirende Bakterien erzeugen in einem sterilen Eiweissmedium reducirende Körper. Als einzige Nährstoffquelle ist diesen Bakterien Caseïn geboten, das mit Hülfe von Natriumcarbonat in Lösung gebracht worden ist. Es müssen also hier Abbau- oder Umwandlungsproducte des Caseïns erzeugt sein, die die reducirende Thätigkeit der Nährlösung nach einiger Zeit ausüben. Mit dieser Annahme stimmt auch die Beobachtung überein, dass erst nach mehreren Tagen die reducirenden Eigenschaften auftreten; zu dieser Zeit erweist sich das Caseïn schon hochgradig verändert; es ist, wie Controlproben ergaben, nicht mehr gerinnbar und enthält neben Peptonen und Aminen eine ganze Reihe alkalischer Producte.

Die Reductasestäbchen, die oben beschrieben sind, verhalten sich anders, sie reduciren in jeder Nährlösung, sei es eine physiologische Kochsalzlösung, eine Milchzuckerlösung, Caseïnlösung, sei es Milch; stets und sehr schnell erlangen die Nährmedien stark reducirende Eigenschaften. Hier sind also die Bakterien selbst die reducirenden Fermente; irgend welche Abbauproducte des Nährbodens kommen nach den Controlversuchen nicht in Betracht.

Will man beweisen, dass die reducirenden Körper, die in dem mit katalysirenden Kokken geimpften Caseïn auftreten, Abbauproducte des Caseïns sind, so muss man versuchen, eine Nährlösung herzustellen, in der ausser dem Caseïn noch solche organische Bestandtheile vorhanden sind, die von den Kokken früher und lieber angegriffen werden als das Caseïn. Sind die in reiner Caseïnlösung entstandenen Reductionskörper wirklich Abbauproducte des Caseïns, so dürfen sie unter gleichen Versuchsbedingungen in der neuen Nährlösung so lange nicht auftreten, als die andere von den Mikroorganismen bevorzugte Nahrungsquelle vorhanden und angreifbar ist. Als eine solche Nährstoffquelle, die das Caseïn vor frühzeitigem Abbau schützt, erwies sich in einer Reihe von Nebenversuchen der Milchzucker. Es wurde daher eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung hergestellt:

a) Caseïn	6·0 grm	b) Milchzucker . . .	12·0 grm
Sol. Natr. carbon .	4·0 ccm	Aqu. dest. . . .	100·0 „
Aqu. dest. . . .	100·0 „		



Die beiden Lösungen wurden einzeln, jede für sich, sterilisirt und nach dem Erkalten unter sterilen Bedingungen zusammengegossen. Ein solches Vorgehen ist nothwendig, da bei Sterilisirung einer alkalisch reagirenden Caseïn-Milchzuckerlösung unfehlbar eine Caramelisirung des Zuckers zu Stande kommt. Die braune Farbe der Lösung, die dadurch entsteht, würde aber eine Prüfung mit Methylenblau ausschliessen. Die Nährlösung mit ihrem Gehalt von 3 Procent Caseïn und 6 Procent Milchzucker entspricht ungefähr dem Gehalt der Milch an Eiweiss und Kohlehydraten.

Versuch vom 18. V. 1905.

100 ccm der Lösung werden mit 0·5 ccm Aufschwemmung der Kokken (Superoxydasecultur) geimpft (A).

100 ccm werden mit 0·5 ccm Aufschwemmung der Stäbchen (Reductasecultur) geimpft (B).

Während der Dauer des Versuches (18. V. bis 20. V. 1905) traten in Lösung A keine, in Lösung B energisch wirkende Reductasen auf. Dann musste der Versuch abgebrochen werden, da durch die freiwerdende Milchsäure (Zersetzung des Milchzuckers), wie festgestellt wurde, eine Gerinnung des Caseïns eintrat. Wir mussten also, um einen länger dauernden und in Folge dessen beweiskräftigeren Versuch zu erhalten, die Milchsäure sofort in statu nascendi binden, so dass sie keinerlei coagulirende Eigenschaften auf das Caseïn ausüben konnte. Dies gelang dadurch, dass dem oben beschriebenen Nährboden noch etwas Calciumcarbonat (0·8 grm) zugesetzt wurde. So wurde es möglich, die Caseïn-Milchzuckerlösung 7 Tage lang ungeronnen zu erhalten (20. bis 26. V. 05). Die Impfung geschah wieder so, dass 100 ccm Nährlösung mit 0·5 ccm Aufschwemmung von Superoxydasecultur inficirt wurden (A), während eine zweite Portion von 100 ccm Nährlösung mit 0·5 ccm Aufschwemmung von Reductasecultur geimpft wurde (B).

Lösung B zerlegt am 2. Tage energisch H_2O_2, reducirt Methylenblaulösung und Schardinger's Reagens und behält diese Eigenschaft während der Dauer des Versuches mit geringen quantitativen Schwankungen.

Lösung A zerlegt sehr energisch H_2O_2, zeigt während der ganzen Dauer des Versuches keine Spur reducirender Eigenschaften.

Wenn also das Caseïn der Lösung, wie in diesen letzten Versuchen, vor Zersetzung geschützt wird, so treten in den mit katalysirenden Kokken geimpften Nährböden auch keine reducirenden Körper auf; dieselben müssen darnach vielmehr mit den Abbauproducten des Caseïns im Zusammenhang stehen, nur durch Zerlegung des Caseïns selbst konnten bei den beschriebenen Versuchen nicht reducirende Bakterien reducirende Körper erzeugen.



Ganz anders verhalten sich, wie oben gezeigt, die isolirten, reducirenden Stäbchenbakterien, die unabhängig vom Nährmedium reducirende Eigenschaften entwickeln.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

1. Superoxydase und Reductase der Kuhmilch sind nicht identisch.

2. Ein principieller Unterschied zwischen der Reduction von Schardinger's Reagens und der von schwach alkoholischer Methylenblaulösung besteht nicht.

3. Superoxydase und Reductase in der Milch müssen nach unseren Versuchen zu den geformten Fermenten gehören; sie sind Aeusserungen bacillärer Lebensthätigkeit. Zu den katalysirenden Bakterien gehören die schon früher von mir als Kokken beschriebenen Mikroorganismen; die reducirenden gehören zur Gruppe der Milchzucker nur wenig angreifenden Stäbchenbakterien.

4. Für die reducirenden Eigenschaften der Kuhmilch kommen ausser den Bakterien noch Abbauproducte des Caseïns in Betracht, wie wir sie experimentell durch bakterielle Processe erhalten haben. Da diese Körper allem Anschein nach analog Fermenten wirken, genügen möglicher Weise schon sehr geringe Mengen zur Erzeugung reducirender Wirkungen. Es ist denkbar, dass solche Producte schon in den Milchgängen des Mutterthieres entstehen, gleichgültig, ob auf bakterieller oder auf rein autolytischer Basis, und so zur Annahme des Vorhandenseins präformirter Enzyme geführt haben.

Ein weiterer Befund, der nicht in directem Zusammenhang mit den beschriebenen Versuchen steht, giebt eine gute Stütze für unsere Resultate. Von Formalinmilchversuchen her existirte noch eine Milch, die seit dem September 1904 bis heute ungeronnen geblieben ist. Die Milch gerinnt beim Kochen und auf Labzusatz nicht; sie reagirt sauer und riecht etwas dumpf, keineswegs faul. Sie hat seiner Zeit einen Formalinzusatz von 1:1000 erhalten und ist absolut steril. Der Formalingehalt ist leicht nachweisbar. Diese Milch giebt die Reactionen der indirecten Oxydasen (mit Guajakol, Ursol D, Paraphenylendiamin u. s. w.) sehr energisch, zersetzt jedoch Wasserstoffsuperoxyd nicht und reducirt Methylenblaulösung ebenso wenig wie Schardinger's Reagens.



Hier fehlen also Bakterien und Bakterienproducte; was an Fermenten wirksam ist, muss als präformirtes Enzym betrachtet werden. Das sind einzig und allein die Oxydasen. Superoxydase und Reductase, die wir nach unseren Versuchen als Bakterienfermente bezw. Producte ansprachen, fehlen.

Als einzelner Befund würde dieser Versuch nicht allzuviel beweisen; mit Hinsicht auf die Ergebnisse der obigen Arbeit aber stützt er unsere bisher gewonnene Anschauung, dass Superoxydase und Reductase Producte bakterieller Thätigkeit sind, während die Oxydasen Enzymcharakter haben.



Cultur von pathogenen Bakterien in Düngerstoffen.

Von

Prof. **Ernst Almquist**
(Stockholm).

1. Chemie der benutzten Nahrung. Voruntersuchungen.

Das erste Mal, da es mir gelang pathogene Mikroorganismen in verunreinigter Erde zu cultiviren, hatte ich Boden vom Eingang eines Viehstalles genommen. Dieser oberflächlich liegende Boden bestand aus einer mit Düngerstoff reichlich imprägnirten Mischung von Stein, Sand und Lehm. Später traf ich bei einem Schweinestall und bei einem ländlichen Schlachthof ebenfalls Erde, die ähnliche Eigenschaften darbot.

Da es sich herausgestellt hatte, dass eine stark gedüngte Erde im Stande war, den besagten Bakterien die nöthige Nahrung zu bieten, so lag es nahe, den Dünger unvermischt zu untersuchen. Bis jetzt habe ich nur den zusammengebrannten Dünger geprüft, also denjenigen, der längere Zeit in Composten oder anderswie verwahrt und von verschiedenen Vegetationen von Mikroorganismen schon durchwuchert gewesen war und gänzlich schwarz und humusähnlich aussah.

Die Methode, zu constatiren, dass eine Bakterie sich vermehrt, ist auf jetzigem Standpunkt der Bakteriologie einfach. Ich sterilisirte im Autoclav bei 120° die Erde, die nur mit destillirtem Wasser versetzt war. Darauf wurde sie mit einer Oese von emulgirten Bakterien geimpft. Gleich darauf und nachher Tag für Tag wurde die Bakterienmenge mittels Agarplatten festgestellt.

In der Erde lässt sich ein genaues Feststellen der Anzahl der Bakterien schwerlich ausführen. Dagegen kann die Entstehung einer hohen Zahl Sicherheit geben, dass eine bedeutende Vermehrung wirklich statt-



gefunden hat. Ich habe mich auch überzeugt, dass der Choleraspirill in U-förmigen Röhren von dem einen zu dem anderen Schenkel hindurchwächst.

Lange Zeit war ich von der Ansicht gebunden, dass die pathogenen Mikroorganismen, wenn überhaupt, so doch nur in concentrirtesten Schmutzstoffen gedeihen könnten. Ich goss deshalb das Wasser sehr vorsichtig zu. Allmählich fand ich aber Dünger, der erst dann eine gute Nahrung für den Choleraspirill ergab, wenn viel Wasser zugesetzt wurde. Dies betrifft im hohen Grade den unten besprochenen salpeterreichen Sägespan.

Aus mehreren Gesichtspunkten war es erwünscht, möglichst klare, wässerige Lösungen für diese Versuche benutzen zu können. Es zeigte sich bald, dass dieselben brauchbar sind und eine gute Nahrung ausmachen. Durch Auslaugen und nachfolgendes Kochen habe ich Extracte dargestellt, die ich jetzt besprechen werde.

Folgende, an der Luft getrocknete Proben von verunreinigter Erde und Dünger sind in dieser Untersuchung näher geprüft:

- S_3 Sägespan, der längere Zeit als Boden in einem Pferdestall gelegen hat.
- S_5 Erde gleich ausserhalb eines Stalles geholt.
- S_7 Dünger von Mistbänken, nach der Vegetationsperiode im Herbst genommen.
- S_8 Erde gleich ausserhalb eines Schweinestalles.
- S_9 und S_{10} Dünger von einem Viehstall, der über einen Sommer im Compost gelegen und zu einer schwarzen, humusähnlichen Masse zusammengebrannt war.

Die chemische Analyse der wasserlöslichen Stoffe dieser bei 100° getrockneten sechs Proben gab in Gramm auf 100 grm Dünger oder Erde folgendes Resultat:

	S_3	S_5	S_7	S_8	S_9	S_{10}
Alles Wasserlösliches .	3·6	0·8	1·0	0·8	4·9	5·4
Ammoniak	0·005	0·010	0·017	0·008	0·048	0·02
Salpetersäure (N_2O_5) . .	1·1	0·078	0·10	0	0	0·05
Gesammtstickstoff (n. Kieldahl) . . .	—	—	—	—	0·49	0·38
Phosphorsäure (P_2O_5) . .	0·026	0·044	0·22	0·075	0·31	0·53
Chlor	0·7	0·2	0·2	0·2	0·8	0·86

Alle sechs Proben reagirten neutral. S_3 enthält 2 Procent Salpeter und 1·2 Procent Kochsalz. S_9 und S_{10} enthalten 5 Procent in Wasser lösliche Stoffe, zum grossen Theil Humusstoffe.



Die unten verhandelten, von obigen Proben bereiteten ziemlich klaren, filtrirten Extracte haben Wassergehalt und specifisches Gewicht, wie folgt:

Bezeichnung der Extracte	Erde : dest. Wasser	Gewicht von 100 ccm
S_3 a	1 : 5	100·8
S_3 b	1 : 10	100·4
S_5 a	1 : 2	100·4
S_7 a	1 : 3	100·26
S_8 a	1 : 3	100.28
S_9 a oder S_{10} a	1 : 7	100·9
S_9 b oder S_{10} b	1 : 14	100·5

In diesem Zusammenhang theile ich mit, dass meine Peptonbouillon (1 Procent Pepton, 0·5 Procent Kochsalz, 2 Procent flüssigen Fleischextract) 101·1 grm wiegt. Eine Peptonbouillon mit Nutrose und 2 Procent Kochsalz wiegt 102·6 grm. Ein nicht unbedeutender Theil der zugesetzten Stoffe ist also von der fertigen, klaren Bouillon bei der Bereitung abgeschieden worden.

2. Wachsthum in verschiedenen Düngerstoffen.

Hier theile ich einige der Versuche mit, die das Wachsthum mehrerer pathogenen Bakterien in etwa 5 ccm der Auslauge verschiedener Düngerstoffe beweisen. Die Auslauge ist immer vor der Impfung mittelst Wasserdampf bei 120° sterilisirt worden. Beschaffenheit und Verdünnung sind oben beschrieben. Das Impfmaterial wurde von Agarculturen genommen und in steriler Kochsalzlösung emulgirt und verdünnt. Nach der Impfung kommen nach der jedes Mal vorgenommenen Untersuchung in der neuen Cultur höchstens einige Hunderte, öfters weniger als 100 Bakterien auf jede Oese. In den folgenden Tabellen gebe ich die Anzahl Bakterien in einer Oese von etwa $1^1/_2$ mg, die in Agar-Agar bei 38° in 2 Tagen sich entwickelt haben. Bei grösserer Bakterienzahl wurde die Oese der Culturflüssigkeit vor dem Plattengiessen verdünnt. Die Zimmertemperatur ist unten mit 18° bezeichnet, obgleich sie etwa von 15 bis 20° wechselte.

1. Versuche mit S_3.

Verdünnung	Bakterie	Temperatur	Nach Tagen Anzahl		
a	Cholera	18°	3 T.	6 000	
b	„	18	3 „	12 000	
a	Typhus	18	17 „	30 000	
b	„	18	17 „	48 000	
b	Dysenterie	24	2 „	2 400	4 T. 100 000
a	Paratyphus	18	17 „	100 000	
b	„	18	17 „	300 000	
b	Coli	24	12 „	180 000	
b	Eiterkokken	24	3 „	74	10 T. 12 000



2. Versuche mit S_9.

Verdünnung	Bakterie	Temperatur	Nach Tagen Anzahl			
a	Cholera	18°	4 T.	130 000		
b	,,	18	4 ,,	120 000		
a	Typhus	18	13 ,,	300 000		
a	Dysenterie	24	2 ,,	> 20 000	4 T.	400 000
b	,,	24	2 ,,	12 000	4 ,,	240 000
a	Paratyphus	18	13 ,,	200 000		
a	Eiterkokken	24	3 ,,	1 200	10 ,,	12 200

3. Versuche mit S_5a.

Bakterie	Temperatur	Tage	Anzahl	Tage	Anzahl
Cholera	18°	9 T.	26 000		
Typhus	18	2 ,,	58	13 T.	8 000
Paratyphus	18	2 ,,	15 000	13 ,,	360 000

4. Versuche mit S_7a.

Bakterie	Temperatur	Tage	Anzahl
Cholera	18°	9 T.	120 000
Dysenterie	24	4 ,,	500 000
Typhus	18	13 ,,	180 000

5. Versuche mit S_8a.

Bakterie	Temperatur	Tage	Anzahl
Cholera	18°	9 T.	80 000
Dysenterie	24	4 ,,	300 000
Typhus	18	2 ,,	12 000
Paratyphus	18	13 ,,	> 500 000

Aus diesen Versuchen geht unzweideutig hervor, dass alle die untersuchten pathogenen Bakterien sich in den betreffenden sterilen Extracten vermehren. Diese verhalten sich längst nicht gleich. S_5 ist für Cholera- und Typhusbakterien wenig zusagend. S_9 giebt dagegen für die genannten Organismen hohe Zahlen. Der Dysenteriebacillus wächst bei 24° schnell und reichlich, in S_5 jedoch in einem Versuche kaum. Die Paratyphusstäbchen vermehren sich auch reichlich. Dagegen wachsen die Eiterkokken spärlicher. Ich habe nicht nur Staphylococcus pyogenes aureus untersucht. Auch Kokken von Impetigo contagiosa und Pemphigus neonatorum verhalten sich in genannter Beziehung ziemlich gleich.

Die Vermehrung in Peptonbouillon ist öfters reichlicher als in den untersuchten Düngerstoffen, jedoch nicht immer. In der nächsten Abtheilung werde ich diese Nahrungsarten näher vergleichen.

Die oben angeführten Versuche deuten weiter eine Sache an, die nicht ohne Bedeutung ist. Im Versuche 2 sahen wir, dass das verdünnte Extract von S_9 weniger Bakterien zu entwickeln vermochte als das unverdünnte. Ganz umgekehrt fanden wir es bezüglich S_3 im Versuche 1.



Die mit gleichen Theilen Wasser verdünnte Flüssigkeit gab in drei Versuchen immer eine grössere Ernte als die unverdünnte. Diese Beobachtung, die ich mehrmals wiederholt habe, stimmt damit überein, dass es in früheren Versuchen mir nicht gelingen wollte, in dem betreffenden sterilisirten Düngerstoff Choleraspirillen zu cultiviren, wenn nur wenig Wasser zugesetzt war.

Es liegt nahe bei der Hand anzunehmen, dass in dem salpeterreichen Düngerstoff S_3 es gerade der Salpeter ist, der die Vegetation verhindern kann.

Meine Erfahrung über die Bedeutung der ungleichen Verdünnung mit Wasser weist darauf hin, dass der Wasserzusatz bei Düngerstoffculturen genau beachtet werden muss.

Ich gehe jetzt zu einigen Details über, die gewisse Seiten der Düngerstoffculturen beleuchten.

3. Näheres über das Wachsthum in Düngerstoffen.

A. Der Choleraspirill.

Die unten angeführten Versuche sind alle mit einer virulenten Race gemacht, die mir Prof. R. Pfeiffer gütigst überliefert hat. Wir studiren zuerst den Einfluss der Temperatur. Ueber Methodik und Culturflüssigkeiten gilt, was früher angegeben worden ist. Die Hautbildung in Bouillon macht die Zahlen ungenauer, als in der Düngerauslauge, wo diese Bildung niemals beobachtet wurde.

	Temp.	Nach						
		1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	7 Tagen	9 od. 10 T.	15 Tagen
S_9 a	18°	10	—	> 15 000	60 000	84 000	100 000	22 000
S_9 a	38	10 000	110 000	360 000	60 000	—	60 000	36 000
S_9 a	24	2 000	120 000	160 000	240 000	—	240 000	140 000
Bouillon	24	> 20 000	300 000	1 160 000	1 600 000	840 000	240 000	180 000

Wir sehen in dieser Tabelle zuerst, dass der Spirill Wärme liebt und bei Zimmertemperatur sowohl eine geringere Anzahl von Individuen hervorbringt, wie auch später den Höhepunkt der Culturentwickelung erreicht. In anderen Versuchen bei Zimmertemperatur wurde S_3 b als Nährflüssigkeit benutzt, und auch dann fand ich denselben späten Höhepunkt, aber eine noch niedrigere Anzahl von Spirillen in jeder Oese. Die Körperwärme bildet den Gegensatz gegen die Zimmertemperatur; Höhepunkt schon nach 3 Tagen und dabei die grösste Zahl von Individuen. Aber nach kurzer Zeit ist die Anzahl bedeutend kleiner, als in der Cultur bei 24° und an gewissen Tagen sogar kleiner als bei 18°.



Wie vorauszusetzen ist, liegen die Verhältnisse bei 24° zwischen denjenigen bei 18 und 38°. Die Wachsthumscurve für Peptonbouillon und die Düngerauslauge ist so ziemlich gleich, nur erreicht jene eine beträchtlichere Höhe.

Um die Wachstumscurve noch weiter zu beleuchten, führe ich folgenden Versuch mit derselben Cholerarace an. Hier wächst der Spirill bei 24° in S_{10}a. a und a′ bezeichnen zwei ganz gleiche Culturen, die von einer emulgirten Agarcultur geimpft worden sind. b und b′ weichen von den eben genannten Culturen nur in so fern ab, dass sie mit einer Oese geimpft worden sind, die von einer 25 Tage alten S_3b-Cultur genommen wurde.

	Nach						
	3 Tagen	5 Tagen	7 Tagen	10 Tagen	12 Tagen	14 Tagen	21 Tagen
a	400 000	1 000 000	600 000	900 000	360 000	360 000	240 000
a′	500 000	1 000 000	200 000	1 000 000	240 000	300 000	100 000
b	870 000	1 100 000	540 000	600 000	480 000	400 000	240 000
b′	480 000	1 200 000	800 000	720 000	400 000	360 000	400 000

Die vier Curven zeigen alle einen Höhepunkt am 5. Tage und lange Zeit nachher hohe Zahlen. Ob etwas Beachtenswerthes darin liegt, dass a und a′ noch einen Höhepunkt am 10. Tage aufweisen, muss weiteren Forschungen vorbehalten werden.

Ich habe den Choleraspirill recht viel in Peptonbouillon wachsen lassen, zu der 2 Procent Kochsalz hinzugefügt wurde. Er wächst dabei üppig und bildet an der Oberfläche eine Haut. In S_3b, mit 2 Procent Kochsalz versetzt, finden wir die Entwickelung derselben Race in folgender Tabelle.

	Nach				
	2 Tagen	4 Tagen	7 Tagen	10 Tagen	14 Tagen
a″ S_3b + 2 Proc. Kochsalz	220 000	80 000	60 000	60 000	44 000
a‴ „ + 2 „ „	240 000	> 15 000	40 000	—	28 000

Wir sehen also ein reichliches Wachsthum mit sehr schnell steigender und darauf sinkender Curve.

B. Die Typhusbakterie.

Um das Wachsthum der Typhusbakterie in Peptonbouillon zu veranschaulichen, wähle ich die von Wirgin sorgfältig ausgearbeiteten Curven.[1] Er fand bei verschiedener Temperatur folgenden Entwickelungsgang.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XL. S. 328.

	Nach							
	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	17 Tagen	34 Tagen
18°	500	123 000	296 000	341 000	540 000	691 000	403 000	168 000
25°	400 000	8 Mill.	11 Mill.	14 Mill.	5 Mill.	1·6 Mill.	420 000	81 500
33°	1 Mill.	12 „	—	—	740 000	—	120 000	42 000
37°	4 „	7 „	5 Mill.	1·3 Mill.	775 500	986 000	60 600	14 000

Wir sehen bei jeder Temperatur regelmässig verlaufende Curven, in denen der Höhepunkt mit zunehmendem Wärmegrad früher erreicht wird. Nach längerer Zeit nimmt die Anzahl lebender Organismen bei höherer Temperatur schneller als bei niedriger ab.

Für die Düngerculturen benutzte ich eine Typhusrace, die Professor Frosch in Trier mir 1903 gütigst überliess. Nicht nur die Race, sondern auch die Zimmertemperatur, die sog. Temperatur von 18°, und die benutzten Oesen sind hier andere, so dass der Vergleich mit Wirgin's Curven nicht zu weit in Details gehen darf. In einer Oese von $1^1/_2$ mg fand ich folgende Zahlen von Individuen.

		Nach						
		2 Tagen	4 Tagen	6 Tagen	9 Tagen	14 Tagen	18 Tagen	23 Tagen
S_{10}a	18°	20 000	400 000	400 000	240 000	160 000	200 000	—
„	24°	480 000	—	480 000	—	840 000	840 000	300 000
„	38°	240 000	240 000	600 000	300 000	70 000	6 000	—

Das Wachsthum in Peptonbouillon und in S_{10}a stimmt in gewisser Hinsicht überein, in anderer Hinsicht finden wir Verschiedenheiten. Die Anzahl nimmt bei Körpertemperatur in beiden Fällen am schnellsten ab und erreicht nicht solchen Individuenreichthum wie bei 24°.

Bei 18° kann die Curve schnell den Höhepunkt erreichen. Ich habe mehrmals denselben am 4. Tage getroffen. Manchmal trifft er auch später ein, und die Curve nähert sich dann derjenigen von 24°. Letzteres Ereigniss beruhte wahrscheinlich auf einer zufällig gesteigerten Zimmertemperatur, oder möglicher Weise auf anderen Entwickelungsformen in der Aussaat.

Das Wachsthum bei 24° ist auffallend und bedeutungsvoll. Wir treffen dabei eine reichliche Entwickelung von Individuen, an den meisten Tagen sogar viel mehr als bei 38°. Das Merkwürdigste dabei scheint mir zu sein, dass bei 24° der Höhepunkt so spät eintrifft. Erst nach etwa 2 Wochen sehen wir ihn in dem angeführten Versuche, und dasselbe hat sich in anderen Versuchen nicht selten wiederholt. Dass bei 18° der Höhepunkt der Entwickelung viel früher eintrifft, als bei der höheren Temperatur, ist ja sehr auffallend.



Andere meiner Untersuchungen zeigen, dass die Typhusbakterie sich bei 24° in Düngerstoffen sehr verschieden entwickelt; sie hat manchmal in der ersten Woche die Culmination erreicht, in anderen Fällen erst nach Verlauf von 2 Wochen. In wie weit sich dabei morphologisch verschiedene Formen beobachten lassen, werde ich unten beleuchten.

Die Typhuscurve in Düngerstoffen muss weiter studirt werden. Die Methode verspricht gute Kennzeichen zwischen den typhusähnlichen Bakterien abzugeben. Auch verschiedene Typhusracen haben ungleiche Curven und können vielleicht auf diesen Weg differenzirt werden.

Es hat weiter sein Interesse zu erforschen, wie die Typhusbakterie sich in mehr kochsalzhaltiger Nahrung entwickelt. Seit längerer Zeit cultivire ich dieselbe in Peptonbouillon und Agar-Agar, zu denen 2 Procent Kochsalz zugefügt worden sind. Die Cultur wächst dabei üppig.

Die folgende Tabelle veranschaulicht das Wachsthum derselben Bakterie in S_3 b, mit 2 oder $1^1/_2$ Procent Kochsalz versetzt. b‴ ist mit einer Oese aus einer 25 Tage alten Cultur in S_3 b, a‴ und a^{IV} ist mit einer virulenten Typhusrace, auf Agar-Agar gewachsen und emulgirt, geimpft worden.

	Nach				
	2 Tagen	4 Tagen	7 Tagen	10 Tagen	14 Tagen
a‴ S_3b + 2 proc. Kochsalz	200	120 000	140 000	180 000	52 000
a^{IV} „ + „ „	0	> 15 000	100 000	142 000	48 000
b‴ „ + $1^1/_2$ „ „	12 000	80 000	240 000 (6 Tagen)	240 000 (9 Tagen)	120 000 (11 Tagen)

Wir finden in diesen salzhaltigen Lösungen bei 24° ein reichliches Wachsthum. In b‴ fand ich nach dem 11. Tage ein recht schnelles Abnehmen der Individuen ohne darauffolgende Steigerung. Der spät eintreffende zweite Höhepunkt blieb in diesen Versuchen aus.

C. Dysenterie, Paratyphus und B. coli.

Die Erreger der Dysenterie und des Paratyphus hat Dr. Conradi in Saarbrücken mir freundlichst gesandt. B. coli ist diesen Winter aus dem menschlichen Darm rein cultivirt. Die letztgenannte Race hatte zuerst ein schwaches Vermögen Milch bei 38° zur Coagulation zu bringen; bald verlor sie aber dieses Vermögen. Sie scheint jedoch, nach anderen Versuchen zu urtheilen, in der vorliegenden Frage sich ebenso zu verhalten wie andere Racen des B. coli. Methode wie vorher.

Die Dysenteriebakterie.

	Nach							
	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	10 Tagen	15 Tagen	21 Tagen
S_2a 18°	42	2 000	26 000	50 000	—	120 000	96 000	48 000
„ 24°	650	120 000	—	120 000	—	100 000	36 000	—
„ 38°	8 000	60 000	—	27 000	—	10 000	200	—
S_3b 18°	101	—	30 000	—	100 000	96 000	36 400	—
„ 24°	> 15 000	—	360 000	—	100 000	10 000	500	—

Die Paratyphusbakterie.

	Nach							
	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	6 oder 7 Tagen	10 Tagen	15 Tagen	21 oder 26 Tagen
S_2a 18°	47	1 500	120 000	180 000	—	240 000	360 000	300 000
„ 24°	26	> 18 000	240 000	400 000	—	840 000	480 000	360 000
„ 38°	15 000	100 000	100 000	120 000	84 000	80 000	100 000	60 000
S_3b 18°	240	—	24 000	—	1 000	—	4 000	—
„ 24°	> 15 000	—	720 000	—	500 000	300 000	200 000	100 000

Bacterium coli.

	Nach								
	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	6 oder 7 Tagen	10 Tag.	15 Tag.	21 Tag.	31 Tag.
S_2a 18°	167	> 12 000	160 000	360 000	—	360 000	480 000	600 000	400 000
„ 24°	> 15 000	480 000	400 000	400 000	—	600 000	600 000	480 000	360 000
„ 38°	> 15 000	100 000	120 000	70 000	100 000	140 000	80 000	14 000	—
S_3b 18°	4 200	—	40 000	—	33 000	40 000	36 000	—	—
„ 24°	> 15 000	—	360 000	—	400 000	500 000	400 000	120 000	—

Nach diesen Versuchen zu urtheilen, wachsen alle drei Bakterien am besten bei 24°, aber auch bei 18° können sie in gewissen Düngerstoffen sehr gut und reichlich gedeihen. Der Höhepunkt wird bei 24° schneller erreicht als bei 18°; die Dysenteriebakterie wächst im Vergleich mit den anderen beiden Arten am schnellsten.

Bei 38° fand ich schnelles Wachsthum, aber durchgehend weniger reichliche Entwickelung als bei niedrigerer Temperatur.

4. Virulenzversuche.

Meine Absicht war zu erfahren, ob virulente Bakterien beim Wachsen in Düngerstoffen die Virulenz verlieren oder nicht. Bezüglich der Cholera habe ich denselben Stamm untersucht, der oben verhandelt ist. Für Typhus musste ich mir einen neuen Stamm verschaffen, und denselben hat mir Dr. A. Pettersson freundlichst gegeben.



In der Dosis von $^1/_5$ einer Oese von 2 mg tödtet der benutzte Choleraspirill ein Meerschweinchen ziemlich sicher, bei kleinerer Dosis aber nicht. Zuerst habe ich die Cultur in Düngerflüssigkeit direct in die Bauchhöhle eingespritzt. Es wurde gleichzeitig festgestellt, dass 3 ccm S_3 a in der Bauchhöhle eines Meerschweinchens keine Krankheit verursacht, wenn die Flüssigkeit steril ist.

Alle gestorbenen Meerschweinchen wurden möglichst bald secirt. Nur solche Fälle sind angeführt, wo eine fremde Todesursache ausgeschlossen war.

Nummer	Cultur	Alter derselben	Dosis ccm	Gewicht grm	
1	S_3b 18°	14 Tage	2·0	420	stirbt in 24 Stunden
2	„ „	9 „	0·5	410	„ „ 25 „
3	S_3a „	17 „	0·5	360	„ „ 24 „

Darauf ging ich zu der gewöhnlichen Prüfung über. Von der Cultur wurde Schrägagar geimpft und nach etwa 20 Stunden bei 38° die Oesen genommen und eingespritzt.

Nummer	Cultur	Alter derselben	Dosis	Gewicht grm	
1	S_3b 18°	30 Tage	$^1/_{10}$ Oese	350	lebt
2	„ 18°	42 „	$^1/_1$ „	230	stirbt in 24 Stunden
3	„ 18°	50 „	$^1/_5$ „	230	„ „ 24 „
4	„ 24°	16 „	$^1/_5$ „	265	lebt
5	S_8 18°	20 „	$^1/_{10}$ „	400	stirbt „ 24 „
6	„ 18°	30 „	$^1/_{10}$ „	520	lebt

Aus diesen Versuchen ziehe ich für den Choleraspirill den Schluss, dass unter gewissen Verhältnissen das Wachsen in Düngerstoffen der Virulenz nicht schadet. Sogar nach recht vielen Wochen kann dieselbe noch unvermindert sein.

Versuche mit der Typhusbakterie.

Nummer	Cultur	Alter derselben	Dosis	Gewicht grm	
1	S_3b 18°	9 Tage	$^1/_{20}$ Oese	370	stirbt in 24 Stunden
2	„ 18°	14 „	$^1/_{20}$ „	190	„ „ 19 „
3	„ 18°	30 „	$^1/_{20}$ „	320	„ „ 20 „
4	„ 24°	30 „	$^1/_{10}$ „	180	„ „ 24 „
5	S_9a 18°	9 „	$^1/_{15}$ „	340	lebt
6	S_{10}a 24°	30 „	$^1/_{10}$ „	150	stirbt „ 48 „



Die Virulenz dieser Typhusbakterie war von Anfang an so stark, dass $^1/_{15}$ einer 2 mg-Oese ein Meerschweinchen tödtete.

Hier können wir analoge Schlüsse ziehen, wie bezüglich der Cholera. Die Virulenz kann sich in Düngerculturen recht lange Zeit erhalten.

5. Ueber die Morphologie der Erreger von Cholera und Typhus.

In einem früheren Aufsatz habe ich Beobachtungen über neue Formen des Choleraspirills und der Typhusbakterie mitgetheilt.[1] Es giebt wohl keinen Forscher, der nicht Kugelbildungen in den Choleraculturen wahrgenommen hätte. Dieselben kommen nämlich häufig vor, vielleicht kann man sie in jeder Cultur auffinden. Viele von den häufig vorkommenden kleinen Kugeln, die öfters leer aussehen, habe ich vergebens zu weiterer Entwickelung zu bringen versucht. Ich nehme desshalb an, dass die Verfasser in ihrem Recht sind, wenn sie die betreffenden Bildungen als degenerirt auffassen. Es giebt aber auch andere Kugeln. Darüber kann sich ein Jeder durch mehrere Methoden leicht überzeugen. Alle Culturen, über die im Folgenden berichtet wird, sind ohne Zucker zubereitet. Traubenzucker scheint dem Choleraspirill immer schlecht zu bekommen.

Man bereitet eine Peptonbouillon mit 2 Procent Kochsalz, und impft in sie den Choleraspirill. Nach etwa einer Woche bei Zimmertemperatur, oder auch nach längerer Zeit macht man von dieser Choleracultur eine Agarplatte, die bei 38° in einem Tage gut getrennte Colonien entwickeln lässt. Wenn wir nun die Individuen dieser Colonien im Mikroskope untersuchen, so finden wir fast in jeder Colonie nur Spirillen. Im hängenden Tropfen in gewöhnlicher Bouillon entwickeln diese Spirillen nach einigen Tagen bei Zimmertemperatur zahllose Kugeln. Das ganze Präparat hat das Aussehen gewechselt; die Spirillen können wohl hier und da entdeckt werden, die Kugeln sind aber die hervortretende Bildung.

Es hat noch mehr Interesse zu erfahren, dass das Gesagte auch für die Düngerculturen gilt. Ich werde einige concrete Beispiele vorführen.. Eine Choleracultur in S_9, Erde und destillirtem Wasser, wird nach 3 Wochen untersucht. Kleine bewegliche Spirillen häufig. Davon wird eine Agarplatte gegossen. In den ausgewachsenen Colonien finden sich nach einem Tage nur Spirillen. Im hängenden Tropfen haben diese in Bouillon bei Zimmertemperatur nach 6 Tagen eine Unmasse von Kugeln hervorgebracht.

Diese Kugeln liessen sich leicht zur Keimung bringen. Ich brachte einige in Bouillon auf ein Deckgläschen; das Präparat blieb 2 Stunden

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904. Abth. I. Bd. XXXVII. S. 18.



bei 38° stehen. Dann wurde ich von einem schönen Schauspiel überrascht: die Kugeln hatten sich vergrössert, maassen nunmehr etwa 2 μ und mehrere schwammen lebhaft herum. Gleichzeitig konnte ich mich überzeugen, dass die Keimung angefangen hatte.

Das Präparat entwickelte sich nun weiter unter meinen Augen bei Zimmertemperatur. Der auskeimende Spirill blieb recht lange mit der Kugel vereinigt. Zuerst sah er gerade, später auch spiralig gekrümmt aus. Das Band zwischen Kugel und Spirill ist kurz und schlaff. Die letztgenannte Eigenschaft wird bei der Bewegung manchmal sehr deutlich. oftmals legt sich der neugebildete Spirill über die Kugel wie ein Tangent, und so bewegen sie sich zusammen. Der Spirill ist dann kaum länger als der Diameter der Kugel.

Eine andere 3 Wochen alte Choleracultur in S_9 und Wasser, die auch kleine bewegliche Spirillen enthielt, wurde verdünnt und zu einer Agarplatte verwendet. Nach einem Tage bei 38° fand ich darin gut getrennte Colonieen, aus Spirillen bestehend. Davon machte ich Bouillonculturen im hängenden Tropfen. Nach 7 Tagen fand ich darin Unmassen von Kugeln. In Bouillon oder auch auf der Agaroberfläche keimten die Kugeln in 2 oder $2^1/_2$ Stunden bei 38°, so wie schon berichtet worden st. Noch festhängend an der Kugel kann der Spirill an beiden Enden weiter wachsen, wobei der neue Organismus nicht an seinem Ende sondern mehr gegen die Mitte mit der Kugel verbunden bleibt.

Wenn ich Agarplatten von meinen Erdeculturen machte, fand ich, wie gesagt, nach einem Tage bei 38° in den Colonieen gewöhnlich nur Spirillen. Jedoch dazwischen konnte ich einzelne Colonieen finden, worin viele sehr lebhafte, keimende Kugeln entdeckt wurden. Den letzten Befund habe ich in gewissen Präparaten häufig getroffen. Es scheint mir nöthig, die näheren Umstände zu erzählen.

In zwei Culturen von verschiedener Erde, die 3 Wochen alt waren, fand ich beim Plattengiessen in den Colonieen nach 24 Stunden nebst feineren und breiteren Spirillen zahlreiche, lebhaft bewegliche keimende Kugeln. Dasselbe traf ich in Agarplatten aus 4 anderen Erdeculturen von verschiedenen Düngerarten; diese Culturen waren 14 Tage alt und wie die vorher genannten bei Zimmertemperatur gewachsen. Ein anderes Mal sah ich die Erscheinung in einer Platte aus einer 24 Tagen alten S_3 b-Cultur bei 24°, die ihrerseits nur bewegliche, kleine Spirillen enthielt. Zuletzt erwähne ich, dass der Befund auch in Agarplatten aus einer 6 Wochen alten Bouilloncultur, mit 2 Procent Kochsalz bereitet, festgestellt wurde.

Die beschriebene Erscheinung ist durch die lebhafte Beweglichkeit der Bildungen stark in die Augen fallend. Nach mehreren Tagen fand



ich sie niemals in den Colonieen derselben Platten. Gerade 1 Tag bei 38° reicht also für den betreffenden Organismus aus, Colonieen zu entwickeln, aus den Spirillen Kugeln zu bilden, und diese wieder keimen zu lassen. Alle die betreffenden Culturen leiteten sich aus derselben Cholerarace her. Ich halte dieses nicht für einen Zufall, da ich beobachtet habe, dass bei verschiedenen Stämmen die Kugelbildung verschieden schnell entstehen kann.

Aus den Versuchen über die Kugelbildung, die, so viel ich fortwährend sehen kann, nichts Weiteres als eine Conidienbildung ausmacht, ziehe ich den Schluss, dass der Choleraspirill unter gewissen äusseren Verhältnissen besondere Neigung zu Kugelbildung bekommt.

Die Bedeutung der Kugeln ist nicht dargelegt. Für die sterile wässerige Erdecultur scheint die Bildung unnütz zu sein. Viele Versuche habe ich gemacht, um eine grössere Widerstandskraft der Kugeln gegen Trockenheit und Hitze festzustellen, aber bis jetzt vergebens. In gewissen Versuchen schienen die Kugeln Trockenheit längere Zeit zu vertragen, als die Spirillen. In anderen Versuchen war es nicht mehr der Fall. Es ist möglich, dass die Kugelbildung nach dem Eintritt in einen Mensch oder ein Thier Bedeutung bekommt. Darüber habe ich jedoch nichts beobachtet. Genannte Vermuthung liegt jedoch nahe bei der Hand, da die Kugeln beim Uebergang in eiweisshaltige Nahrung sich so leicht und gut bilden. Vielleicht ist die Kugelbildung nichts weiter, als die Bemühung des Organismus in gewissen unvortheilhaften Verhältnissen das Leben zu erhalten.

Ich nehme an, dass ein Theil der Bildungen, die A. Fischer studirt und mit dem Namen Plasmoptyse belegt hat, mit den hier verhandelten Kugeln übereinstimmen. Er hat die Geissel und die Zellwand derselben gezeigt.[1]

Schon früher habe ich meine Erfahrung ausgesprochen, dass man in vielen, besonders älteren Culturen Kugeln findet, die nicht keimen. Dass solche krankhafte Bildungen Degenerationsformen sind, liegt in der Natur der Sache. Anders verhalten sich Kugeln, die einen natürlichen Abschluss der Vegetation bilden, und die nachher auf eine charakteristische Art keimen und zu neuen Spirillen auswachsen.

Bezüglich der Typhusbakterie habe ich schon im Jahre 1894 über kleine feine Bildungen — „sporenähnliche Bildungen" — berichtet.[2] In meinem eben citirten Aufsatze habe ich auch über Kugeln oder Conidien bei der Typhusbakterie Mittheilungen gemacht. Diese Bakterie hat also mehrere verschiedene Formen.

[1] A. Fischer, *Vorlesungen über Bakterien.* Jena 1903. 2. Aufl. S. 48.

[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XV. S. 286.



Das Plattengiessen, das für das Cholerastudium gutes Resultat gab, habe ich auch für die Typhusculturen versucht. Die Methode erlaubt die verschiedenen Formen der Spirille zu trennen, so dass man es gleichzeitig nur mit einer zu thun hat. Die Agarplatten von Typhusculturen in Erde oder Bouillon mit 2 Procent Kochsalz versetzt gaben mir hingegen selten ein beachtungswerthes Resultat. Nach einem Tage bei 38° fand ich immer nur Stäbchen oder mehr nadelähnliche, feine Bildungen, oft beide zusammen. Nach einigen Tagen, wenn die Platten bei Zimmertemperatur verwahrt waren, fand ich jedoch ein paar Mal in den Colonieen sehr merkwürdige Formen. Davon werde ich wie folgt erzählen.

Aus 2 Typhusculturen in Bouillon mit 2 Procent Kochsalz, die beide 2 bis 3 Wochen alt waren, habe ich Agarplatten verfertigt, die nach einem Tage nur Stäbchen zeigten; aber später, in dem einen Falle nach 5, in dem anderen nach 9 Tagen, entdeckte ich Colonieen mit sowohl Stäbchen wie Kugeln. In wenigen Tagen war die Erscheinung vorüber, und ich sah danach wieder nur Stäbchen.

Während der Dauer der Erscheinung sah ich zahlreiche, lebhaft bewegliche Typhusstäbchen von gewöhnlicher Dimension, aber an der Seite des einen Pols mit einer etwa 1 μ messenden Kugel versehen. Kugel und Stäbchen waren mit einem schmalen Hals mit einander verbunden. Manchmal ging von der Spitze des Stäbchens nicht eine Kugel, sondern eine kurze nadelförmige Bildung winkelrecht aus. Auch von der Mitte des Stäbchens sah ich, obgleich seltener eine Kugel ausgehen. Manchmal traf ich gleichzeitig in derselben Colonie Kugeln, aus denen zwei stark divergirende Stäbchen von demselben Punkt der Kugel hervorsprossen.

Ich deute diese Erscheinung als analog den beschriebenen Beobachtungen bei dem Choleraspirill. Die Stäbchen bilden Kugeln, das heisst Conidien, und diese keimen wieder zu Stäbchen aus.

Zuletzt will ich bezüglich der Morphologie des Typusstäbchens die Aufmerksamkeit auf die oben beschriebenen Curven (S. 185) lenken. Wir fanden dort, dass bei 24° der Höhepunkt spät, sogar später als bei 18°, eintraf. Dabei entwickelte sich eine enorme Menge von gleichzeitig lebenden Individuen. Ich habe natürlicher Weise öfters diese Culturen im Mikroskope beobachtet. Jedoch ist es nicht leicht Beweise zu liefern, dass in verschiedenen Culturen ungleiche Formen vorherrschend wären. Man kann sich nämlich in vielen Fällen leicht irren. In den Culturen liegen nämlich lebende und todte, lange und kurze, breite und schmale Individuen durch einander. Ein genaues Rechnen ist um so viel schwieriger auszuführen, als es schmälere Formen giebt, deren Zusammengehörigkeit mit Stäbchen oder Nadeln noch unaufgeklärt ist.

Dieser Schwierigkeiten ungeachtet habe ich jedoch den Versuch gemacht, die Frage aufzunehmen. In Culturen, die von Agar- oder Gelatineculturen geimpft sind und bei 18° wachsen, sieht man in der Düngerflüssigkeit, wenigstens während recht vieler Tage fast nur gewöhnliche, breite Stäbchen. Bei 24° verliert sich dieses Bild allmählich, und schmälere und nadelförmige Stäbchen werden häufig. Ich habe Culturen untersucht, worin die letztgenannten Formen sicher bedeutend zahlreicher waren als die gewöhnlichen Stäbchen.

Sowohl Curven wie directe Beobachtungen machen es also wahrscheinlich, dass die sogenannten „sporenähnlichen Bildungen" eine grosse Rolle für die Vermehrung des Typhuserregers in Düngerculturen spielen.

Ueber die Morphologie der Cholera- und Typhuserreger verweise ich im Uebrigen auf meinen früheren, schon citirten Aufsatz vom vorigen Jahre. Der dortige Inhalt wird hier nicht wiederholt.

6. Ueber Biologie der Erreger und die betreffenden Epidemieen.

Um die Entstehung eines Falles von ansteckender Krankheit festzustellen, wäre es eigentlich nöthig, direct zu beobachten, dass Mikroorganismen von dem Kranken abgesondert wurden, wie dieselben zu einem anderen Menschen gelangten, und wie sie dort die Krankheit entzündeten. Wir fordern also mikroskopische und culturelle Beobachtungen über die Absonderung und über den Weg ausserhalb des Menschen. Ausserdem muss gezeigt werden, wie die genügende Virulenz entstand, ob diese schon bei den abgesonderten Organismen und noch beim Eingang in die angesteckte Person sich vorfand, oder ob sie nach Verlassen des ersten Kranken in der Aussenwelt erhöht wurde.

Es ist natürlicher Weise höchst selten, dass der Ursprung von Typhus- oder Cholerafällen diesen Anforderungen entsprechend sicher gestellt wird.

Im Allgemeinen muss man sich begnügen, in anderer Art vorzugehen. Bei vielen Epidemieen hat man sichere Beweise erbracht, dass das Trinkwasser den Ansteckungsstoff verbreitet hat. Besonders wo mehrere Wasserwerke in derselben Gegend arbeiten, genügt dieser Beweis. Ich brauche nur an die Beschreibungen von C. Fränkel über den Typhus in Berlin und von Gaffky über die Cholera in Hamburg zu erinnern. Eben dieselbe Sicherheit erlangen wir bezüglich vieler Milchepidemieen. In einer grösseren Ortschaft mit vielen Milchversorgungen werden die Beweise genügend.

Obgleich also alle objectiven Beobachter sich überzeugt haben, dass bei gewissen Epidemieen die Wasserleitungen virulente Bakterien herumführten, so ist damit die ganze Frage der Entstehung nicht gelöst. Es



bleibt übrig, zu beweisen, dass dieselben Individuen, die den kranken Menschen verlassen, auch die neuen Ansteckungen verursacht haben. So viel ich weiss, ist dieses in keiner Epidemie dargelegt. Dagegen sprechen Beobachtungen über den Zeitverlauf gewisser Epidemieen gegen die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme. Auch die Frage über die Virulenz der abgesonderten Bakterien ist nicht in jedem Fall so sicher. Ebenso wenig ist bezüglich der Anzahl der von den Kranken ausgehenden Bakterien der Beweis erbracht worden, dass diese Anzahl für die Entstehung der neuen Epidemie ausreiche.

Mit der Ansteckung durch Contact sind wir in gewisser Hinsicht leichter fertig. Wo noch virulente Bakterien von einem Kranken ausgehen, und wenn eine Person solche aufgenommen hat und genau nach Verlauf der Incubation erkrankt, so ist die Sache klar, wenn andere gleichzeitige Ansteckungsquellen ausgeschlossen werden können. In solchen Fällen braucht man sich nicht über das Schicksal der Bakterien in der Aussenwelt zu bekümmern. Hier giebt es aber andere Schwierigkeiten. Um diese Art von Ansteckung objectiv darzulegen, ist es durchaus nothwendig zu beweisen, dass die Ansteckungsquelle des primären Falles den secundären Fall nicht hat hervorrufen können, und allgemein, dass keine andere Ansteckungsquelle als der Kranke eine Bedeutung haben könne. Bei der Fleischvergiftung kann ein solches Ausschliessen am ehesten geschehen, bei besonders charakteristischen Bakterienracen vielleicht auch. Man sollte glauben, dass, falls ein Kranker von fremder Ortschaft in ein gesundes Haus zur Pflege aufgenommen würde oder durch inficirte Milch angesteckt worden ist, man für die Contactansteckung ein gutes Beweismaterial bekommen sollte. Dieses ist aber nicht der Fall, denn dann finden wir als Regel die neuen Fälle kaum vor 4 Wochen nach der Aufnahme.[1] Hier ist also ein neues, unsicheres Moment hinein gekommen.

Die Sache lässt sich aber einfacher auffassen. Wenn wir nur annehmen, dass es festgestellt ist, dass die Erreger von Typhus, Cholera, Dysenterie und verwandten Krankheiten eine concentrirte Nahrung von Pepton oder anderem Eiweiss für ihr Gedeihen brauchen, so entgehen wir vielen Schwierigkeiten. Dann würde es nämlich sicher werden, dass praktisch genommen diese Krankheitserreger nur im lebenden Menschen (bezw. Thieren) und in unserer Nahrung sich vermehren.

Diese Annahme ist aber nie bewiesen. Durch obige Befunde ist sie sogar unwahrscheinlich gemacht worden. Besagte Bakterien wachsen nämlich vorzüglich im alten Dünger und in gedüngter Erde. Die Vermehrung kann sogar reichlicher sein, als in gewöhnlicher Peptonbouillon.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. X. S. 163.



Ein landläufiger Ausdruck in der bakteriologischen Litteratur spricht von einer „Deposition“ dieser Bakterien in der Erde. Da sollten sie sich lange Zeit lebendig erhalten, ohne sich zu vermehren. Dass sie in steriler, wässeriger Erde sich lange lebendig erhalten können, ist constatirt; wer aber hat den Beweis erbracht, dass sie sich dabei nicht vermehren können?

Dünger und gedüngte Erde können sicherlich von vielen einander folgenden ungleichartigen Vegetationen durchwuchert werden. Schimmel, höhere Pilze, anaërobe Bakterien fangen vielleicht die Arbeit an. Darauf können andere Vegetationen eintreten. In der Erde wird zuletzt der gebundene Stickstoff wenigstens theilweise in Salpetersäure umgewandelt. Wenn alles in eine dunkle humusartige Masse verwandelt worden ist, kann gewissermaassen ein Stillstand der genannten Vegetationen eintreten. Zu diesem Zeitpunkt habe ich die Düngerproben für meine Untersuchungen gewählt.

Ich nehme nämlich als möglich an, dass die Krankheitserreger gerade nach Verlauf der ersten, kräftigen Vegetationen ihre Existenz im Dünger behaupten können. Dieses hat sich für den sterilisirten Dünger bestätigt. In nicht sterilisirtem Dünger entwickelt sich eine enorme Flora und Fauna. Bakterien, Schimmelarten, Streptothrix, Protozoën von mehreren Arten bilden ein buntes Wirrwarr, worin es mir bis jetzt nicht gelang, das Schicksal der Krankheitserreger sicher zu verfolgen.

Damit ist die Frage jedoch nicht erledigt. Es ist a priori am wahrscheinlichsten, dass die pathogenen Organismen nur unter gewissen Verhältnissen den Kampf um das Dasein mit den anderen Organismen aufnehmen können. Der Dünger muss vorher in einen gewissen Zustand gebracht worden, und der Salzgehalt und die Temperatur passend sein. Verschiedene pathogene Arten verhalten sich dabei gewiss verschieden. Es ist möglich, dass z. B. die Cholerabakterien durch ihr Vermögen in 2 Procent Kochsalz gut zu wachsen, die nöthige Hülfe bei der Concurrenz bekommen. Wenigstens wird bei diesem Gehalt von Kochsalz sowohl die Flora wie die Fauna deutlich zurückgedrängt, wovon ich mich durch besondere Versuche überzeugt habe.

Die Frage über die Vermehrung der betreffenden Krankheitserreger in der Umgebung unserer Häuser, in Düngerwasser und gedüngter Erde muss also noch als offen betrachtet werden.

Nicht nur die angeführten biologischen Studien über die Krankheitserreger, sondern auch Beobachtungen über Epidemieen mahnen zur Vorsicht. Zahlreiche, genau beobachtete Epidemieen können nicht mit der Annahme zwanglos erklärt werden, dass die Ansteckung direct von einem oder mehreren Kranken ausgegangen wäre, und dass also für die Erklärung nur mechanische Momente erforderlich seien.



Ich werde sechs Hauptpunkte hervorheben, die nach meiner Auffassung dagegen sprechen, dass jede von den besagten Epidemieen nur durch Berücksichtigung der Menschen und gewisser mechanischer Momente erklärt werden kann. Nach einer ausschliesslich mechanischen Hypothese sind die sechs Punkte nicht leicht und ungezwungen zu erklären.

1. Die Cholera steckt nicht oft die Aerzte, Krankenwärterinnen oder im selben Krankenhause zusammengehäufte Personen an, auch nicht in Zeiten, da weder die Aerzte, noch die Krankenhäuser als sauber zu erachten waren. Ebenso der Darmtyphus. Die Empfindlichkeit gegen Trockenheit erklärt wohl vieles, jedoch nicht die ganze Erscheinung. Ich setze sie in Zusammenhang mit den folgenden Momenten.

2. Der Darmtyphus ruft in der Regel erst im Verlauf von gegen 4 Wochen neue Fälle hervor. Dieses habe ich in einer oben citirten Abhandlung als ein allgemein gültiges Gesetz gefunden. Eine neulich von Nyman beschriebene Trinkwasserepidemie liefert ein neues hübsches Beispiel dieser Regel.[1] Für die gefundene Regel muss entweder die Zeit für die Absonderung der Bakterien — was bis jetzt nicht geschah — oder ein biologisches Verhältniss der Typhusbakterie ausserhalb des Körpers die Erklärung abgeben. Wenn aber meine Curven oben S. 185 für eine Typhuscultur in der Umgebung des Patienten sich als geltend erweisen, dann wäre eine Erklärung bald gegeben.

3. Wenn die Kranken auf dem Höhepunkt einer Epidemie die meisten Krankheitssamen ausstreuen, so nimmt trotzdem die Krankheit schnell ab und kann bald gänzlich aufhören, obgleich die Bevölkerung stark wechselt und neue Individuen in grosser Anzahl in den Krankheitsherd einziehen. Umgekehrt kann ein einziger Kranker Mengen von Menschen vergiften.

4. Die besagten Epidemieen sind im Herbst vorherrschend. Die Dysenterie wüthet mehrere Jahre nach einander in derselben Stadt, jedoch fast ausschliesslich im Herbst. Ich verweise als Beispiel auf die grosse Epidemie in Malmö 1880 bis 1883.[2]

5. Die enorme Bedeutung der Reinhaltung ausserhalb des Hauses, auch wo das Trinkwasser einwandsfrei ist.

6. Der grosse Unterschied zwischen Stadt und Land, und Stadtcentrum und neueren Stadttheilen ist bezüglich Darmtyphus sehr auffallend. Auf dem Lande und in neueren, schmutzigen Stadttheilen kommen umfangreiche Typhusepidemieen oft vor. In ebenso schmutzigen Stadtcentren beobachtet man ohne Betheiligung des Trinkwassers kaum je etwas Derartiges.

[1] *Hygienische Rundschau.* Bd. XV. S. 225.
[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. V. S. 29.



Für die Cholera in Schweden habe ich festgestellt, dass die erste Epidemie einer Stadt fast immer die allerschwerste, und die folgenden immer milder waren, obgleich dieses für Zeiten mit grosser Einwanderung vom Lande galt. Ueberdies ging aus meinen Untersuchungen hervor, dass in den öffentlichen Gebäuden Götenborgs, in Krankenhäusern, Kasernen, Armenhäusern, Gefängnissen, Arbeiterwohnungen die Anzahl der an Cholera im selben Hause erkrankten nach jeder überstandenen Epidemie deutlich abnahm.[1]

Unter jetzigen Verhältnissen halte ich deshalb die Theorie für berechtigt, dass die besagten Krankheitserreger in Düngerflüssigkeit und gedüngter Erde sich vermehren können. Wenn dieses sich bestätigt, so haben die betreffenden Diarrhöeerreger zwei Brutstätten, wo sie gedeihen: in den menschlichen Verdauungsorganen und in gedüngter Erdoberfläche in der Nähe unserer Wohnungen. Vielleicht gilt dasselbe auch für B. coli in avirulenter Form. Für viele Bakterien würde dann der Mensch als Verbreiter der Organismen von einem zum anderen Schmutzhaufen Bedeutung haben. In einer und derselben Brutstätte wachsen sie wahrscheinlich nur in sehr begrenzter Zeit.

7. Schlussfolgerungen.

1. In gedüngter Erde, sowie in reinem Dünger können nach Sterilisiren und genügendem Wasserzusatz die untersuchten Krankheitserreger von Cholera, Typhus, Paratyphus, Dysenterie und auch B. coli bei verschiedener Temperatur üppig wachsen. Die Eiterkokken und deren Verwandte vermehren sich darin spärlicher und werden im Folgenden ausser Acht gelassen.

2. Die genannten Diarrhöebakterien gedeihen nicht vorzugsweise in concentrirten Schmutzstoffen. Extracte vom spec. Gewicht von nur 1·005 bis 1·0026 können eine vorzügliche Nahrung ausmachen. Umgekehrt kann ein mehr concentrirtes, salpeterreiches Extract nach Verdünnung ihnen mehr zusagen.

3. In vorliegender Nahrung offenbaren die Bakterien manches Bemerkenswerthe. Die Vermehrung der Typhusbakterie zeigt manchmal bei 24^0 eine Curve, die langsamer den Höhepunkt erreicht als bei 18^0. Ein beträchtlicher Höhepunkt kann sich in der 2. Woche oder noch später äussern.

[1] *Thatsächliches und Kritisches zur Ausbreitungsweise der Cholera.* Göteborg 1886. S. 22, 38.

4. Der späte Höhepunkt der Typhuscurve steht mit Bildung von kleineren Wachsthumsformen in einem gewissen Zusammenhang.

5. Beim Zusatz von 2 oder $1^1/_2$ Procent Kochsalz wachsen die Erreger von Cholera und Typhus üppig. Die Wachsthumscurve verläuft hierbei oft schneller.

6. Die Virulenz der Typhus- und Cholerabakterien kann beim Wachsen in Düngerstoffen während mehrerer Wochen unvermindert bleiben.

7. Der Choleraspirill bekommt unter gewissen Verhältnissen grosse Neigung Kugeln, d. h. Conidien zu bilden.

8. Die völlig entwickelte Choleraconidie keimt in Peptonbouillon zu einem Spirill aus.

9. Die Biologie der Erreger, ebenso wie die Verbreitungsweise der Epidemieen machen die Theorie berechtigt, dass die bezüglichen Mikroorganismen in Düngerflüssigkeit und gedüngter Erde ausserhalb unserer Wohnungen wachsen können.



[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.]
(Vorstand: Prof. R. Paltauf.)

Zur Kenntniss der Negri'schen Tollwuthkörperchen.

Von

Dr. **Josef Schiffmann.**

Im Jahre 1903 beschrieb Negri (1) in den Nervenzellen lyssaerkrankter Hunde und Kaninchen eigenthümliche Gebilde, die er als Erreger der Lyssa deutete. Diese Gebilde haben eine — je nach ihrer Lage im Zellleib — verschiedene Gestalt und wechseln in ihrer Grösse von 1μ bis 27μ Länge. Als geeignetes Object zu ihrem Studium giebt Negri das Ammonshorn solcher Hunde an, die nach subduraler Infection mit Strassenwuth in einem 14 bis 15 Tage umfassenden Zeitraum zu Grunde gegangen waren. Im Inneren dieser Einschlüsse konnte Negri sowohl in den frisch zerzupften, als auch in den nach Mann gefärbten Präparaten eine deutliche Structur nachweisen. Nicht nur im Ammonshorn, auch in anderen Theilen des Nervensystems konnte Negri die beschriebenen Gebilde zur Darstellung bringen, wenn auch nicht in gleicher Menge und Grösse wie im Ammonshorn.

Bei den mit Strassenwuth inficirten Kaninchen fanden sich die Einschlüsse auch regelmässig. Auffallend war die kleine Dimension derselben. Impfung in den Ischiadicus lässt eine andere Localisation der Einschlüsse nämlich in den Spinalganglien und im Rückenmark hervortreten.

Auch bei Virus fixe hat Verfasser Untersuchungen angestellt; er bezeichnet sie als sehr mühevoll und schwierig, da die Grösse und Zahl der Parasiten mit kürzer werdender Krankheitsdauer abnehme. Doch gelang es Negri im Ganglion Gasseri, in Spinalganglien und im Rückenmark einiger Kaninchen, die theils durch den Ischiadicus, theils subdural



inficirt worden waren, seinen Parasiten zu finden. Die gut erhaltene Structur und Färbbarkeit des Parasiten nach Aufbewahrung in Glycerin und bei Fäulnis festigten die Ansicht, man habe es hier mit dem Erreger zu thun.

In einer zweiten bald darauf folgenden Mittheilung erweiterte Negri (2) die bisher angestellten Experimente. Nicht nur beim Kaninchen, auch beim Hunde erzielte er durch Verimpfung in den Ischiadicus mit verändertem klinischen Bild eine veränderte Localisation der Zelleinschlüsse. Es fanden sich im Ammonshorn und Kleinhirn höchstens ganz kleine Körperchen. Der erste Ort des Eindringens bei subduraler Impfung war das Ammonshorn, wo die Gebilde im Anfang recht klein waren, sich jedoch bei Virusarten, welche den Tod nach 12 bis 13 Tagen zur Folge hatten, bereits nach 10 bis 11 Tagen fanden.

Das Hauptgewicht legte jedoch Negri auf den diagnostischen Werth der von ihm gefundenen Zelleinschlüsse. Er fand die Einschlüsse bei dem natürlich verendeten Strassenhund kleiner als beim künstlich wüthend gemachten; sie überragten nie die Grösse von 10 bis 15 μ. Bei einer Reihe von 88 Hunden, die Negri untersuchte, war es nur ein einziger, bei dem die biologische Methode ein positives Resultat ergab, die Untersuchung nach Negri jedoch negativ blieb, ohne dass dafür eine hinreichende Erklärung gefunden wurde. Da nur Kleinhirn und Ammonshorn zur Verfügung standen, glaubt Negri, man könne es hier wohl mit ungewöhnlicher Localisation zu thun haben.

Die Befunde Negri's wurden nun von einer Reihe von Autoren bestätigt; so hat auch Luzzani (3), die unter Negri's Anleitung arbeitete, eine Reihe von 179 Fällen publicirt. Nur in zwei Fällen konnte sie bei positivem Ergebniss der biologischen Methode keine Negri'schen Körper im Ammonshorn nachweisen, was sie auf eventuelle abnorme Localisirung zurückführt. Auch bei Katzen konnte sie die Einschlüsse wahrnehmen, nur müsse man hier vorwiegend das Kleinhirn berücksichtigen, da in den Zellen des Ammonshornes auch bei normalen oder anderweitig erkrankten Katzen nach Mann rothe Körperchen vorkämen, welche mit dem Parasiten im ersten Entwickelungsstadium Aehnlichkeit hätten.

Bei einem wuthkranken Rind war der Befund positiv; bei einem Pferd, das nach der biologischen Probe wuthkrank war, fanden sich weder im Kleinhirn, noch im Ammonshorn die Einschlüsse. Luzzani resumirt die Fälle Negri's, Volpino's, d'Amato's und Daddis's[1] im Ganzen

[1] Ein Theil der italienischen Litteratur war mir nur im Referat zugänglich, einen Theil konnte ich als unreferirt leider nicht berücksichtigen.



457 Fälle, von denen 297 wuthkrank mit 288 positiven Negri'schen Befunden waren, und kommt zum Schlusse, „wenn man bei einem wuthverdächtigen Thier die endocellulären Formen des Protozoon in dessen Nervensystem antrifft, man das Thier ohne Weiteres als ein wuthkrank gewesenes wird erklären müssen und nunmehr ganz unbesorgt die Probeinoculation unterlassen können". Im negativen Fall ist immer noch die biologische Probe anzustellen.

Dieser Schlusssatz wurde durch eine Arbeit von Abba und Bormans (4) bestätigt. Sie beziffern das Fehlen der Negri'schen Gebilde auf 3 bis 4 Proc. der wuthkranken Fälle. Versuche, ob das Ammonshorn grössere Virulenz habe als die anderen Hirntheile, ergaben ein negatives Resultat.

Auch beim Menschen wurden die Negri'schen Körperchen gefunden, Bertarelli und Volpino (5), auch Luzzani (6) konnten je einen genau untersuchten Fall menschlicher Lyssa mit positiven Befunden in einigen Theilen des Nervensystems veröffentlichen. Maas (7) fand in seinem Fall keine Negri'schen Körper, doch glaube ich, dass man diesem negativen Befund nicht zu viel Bedeutung zumessen darf, da sämmtliche Stücke in Alkohol gehärtet wurden und das Auffinden der Gebilde im frischen Präparate langer Uebung bedarf.

Bertarelli (8) untersuchte das morphologische Verhalten der Körperchen in Bezug auf die Virulenz, bei Wärme, Austrocknung, Verwesung, Aufbewahren in Glycerin, Wasserdampf, Wasser und physiologischer Lösung. Bertarelli und Volpino (9) haben dann noch fernere Experimente mit Wuthvirus im Hinblick auf die Negri'schen Einschlüsse angestellt — vorwiegend wohl Filtrationsversuche. Alle diese Experimente lassen es als nicht unmöglich erscheinen, dass wir es bei den von Negri entdeckten Gebilden mit dem Erreger zu thun haben, vermögen jedoch einen positiven Beweis dafür nicht zu erbringen.

Volpino (10) konnte mit einer eigenen Färbemethode in den Negri'schen Körperchen basophile Gebilde verschiedener Form nachweisen, die er als die Erreger anspricht und schliesslich hat Maresch (11) durch Anwendung der Bielschofsky'schen Methode die Structur der Negri'schen Einschlüsse in so klaren Bildern dargestellt, wie es durch die Mann'sche Methode bisher nicht möglich war. Aus alle dem ist wohl zu ersehen, dass wir in den Negri'schen Gebilden ein diagnostisches Merkzeichen haben, das nur in den seltensten Fällen im Stich lässt, dass wir aber über ihre Natur bis jetzt kein klares Urtheil zu fällen vermögen.



Durch die eben erwähnten Arbeiten war die Morphologie und der diagnostische Werth der Negri'schen Einschlüsse einem eingehenden Studium unterworfen worden. Mein Plan war es nun, experimentell-morphologisch die Negri'schen Einschlüsse zu studiren, und zwar ging ich dabei so vor, dass ich verschiedene Thiere mit der gleichen Passage, dem gleichen Virus impfte und wiederum die gleiche Thierart mit verschiedenen Passagen. Es kamen Strassenwuth, Durchgangsvirus und schliesslich auch Virus fixe zur Verwendung. Da jedoch zu Beginn meiner Arbeit die Frage der Specifität der Einschlüsse anderen das Centralnervensystem besonders betreffenden Krankheiten gegenüber nicht in ausgiebiger Weise bearbeitet erschien, wollte ich mich zunächst von der Specifität der genannten Einschlüsse überzeugen. Ueber die Zellpathologie des Ammonshorns sind die histologischen Untersuchungen vor der Negri'schen Arbeit ziemlich selten, hingegen sind die Zellen des normalen Centralnervensystems im Allgemeinen in einer Reihe ausgezeichneter, bis ins feinste Detail gehender Untersuchungen, ich will nur die Arbeiten von Held und die von Holmgren nennen, beschrieben worden, so dass die Aussicht, in normalen Zellen den Negri'schen Einschlüssen Aehnliches zu finden, wohl gering war. Nichtsdestoweniger wurden einige normale Kaninchen zum Vergleich untersucht. Von pathologischen Fällen kamen einige mit Tetanustoxin vergiftete Kaninchen, ein Tetanushund, ein Fall von menschlichem Tetanus, ferner ein nach Seruminjection eingegangenes Kaninchen und schliesslich eine Reihe von Kaninchen zur Untersuchung, die mit Dysenterietoxin vergiftet wurden. Das eben angeführte Gift wurde aus dem Grund gewählt, da die Erscheinungen von Seiten des Centralnervensystems im Vordergrund stehen und daselbst auch nach den Untersuchungen von Dopter (12) ausgiebige pathologische Veränderungen gefunden wurden.

Als Infectionsmodus bei der Lyssa wurde die subdurale Impfung gewählt und zwar stets, wo nicht anders erwähnt, mit der Medulla oblongata. Es wurden dann die kleinen Stücke in Zenker'sche Flüssigkeit eingelegt. In Zenker dürfen die Stücke nur möglichst kurz bleiben, da überschüssige Fixirung nach meiner Erfahrung die häufigste Quelle mangelhafter Mann'scher Färbung ist. Die Stücke wurden so ausgewählt, dass möglichst viele Zellen in den Schnitt fielen, also insbesonders beim Kleinhirn durch zwei Frontalschnitte eine Scheibe herausgenommen, die bei kleineren Thieren dem Durchschnitt durch das ganze Kleinhirn entsprach. Gefärbt wurde, um conforme, zum Vergleich geeignete Präparate zu erhalten, stets nach Mann. Doch wurden zur Controle hier und da auch andere Methoden herbeigezogen. Gute Präparate, nach Mann gefärbt, lassen den complexen Aufbau der Körperchen trefflich erkennen. Die



Methode von **Maresch**, welche sie jedoch in dieser Beziehung bedeutend übertrifft, war zu Beginn meiner Arbeit noch nicht bekannt und giebt auch jetzt noch nicht so sichere und regelmässige Resultate, dass sie sich für die Untersuchung ganzer Serien eignen würde.

Verhältnissmässig leicht gestaltet sich das Suchen im Ammonshorn und Kleinhirn; die Zellen, in denen sich Negri'sche Einschlüsse finden können, sind auf jedem Schnitt in sehr grosser Anzahl enthalten, ihre reihenweise Anordnung gestattet ein lückenloses Durchsuchen mit dem beweglichen Objecttisch, der hier vorzügliche Dienste leistet. Das Protoplasma der Purkinje'schen Zellen ist zart, meist ohne Schollen, in zweiter Linie auch das der Ammonshornzellen, so dass hier auch kleine Negri'sche Einschlüsse der Beobachtung nicht entgehen können. Viel schwieriger gestalten sich die Verhältnisse bei der Untersuchung des verlängerten Markes, des Rückenmarkes und der Spinalganglien; im verlängerten und Rückenmark ist die Anzahl der getroffenen Zellen verhältnissmässig gering und die Zellen der letztgenannten drei Gegenden sind in ihrem Protoplasma meist schollig gebaut oder vacuolig verändert, was das Auffinden Negri'scher Körper bedeutend erschwert. Wie leicht erkenntlich, sind es also die negativen Befunde, die hier Schwierigkeit machen. So drückt sich auch bei Negri und einigen Nachuntersuchern in Fällen negativer oder spärlicher Befunde eine gewisse Unsicherheit aus, vielleicht hätte man bei noch grösserer Ausdauer der Untersuchung doch noch Einschlüsse gefunden. Es ist dies leicht erklärlich; die einzige ganz exacte Methode, das Nervensystem in feine, gut gefärbte Serien zu zerlegen, ist praktisch nicht durchführbar. Untersucht man auch eine grosse Schnittserie, wie dies insbesondere in den negativen Fällen stets geschehen ist, so ist doch die Fehlerbreite, vergleicht man den nicht untersuchten Rest, eine recht bedeutende. Ferner kommt noch eine Schwierigkeit hinzu. Die Negri'schen Körper treten häufig inselförmig auf, so dass oft z. B. in einem Rückenmark die Zellen einiger Schnitte frei von Einschlüssen sind, während in einer einzigen Zelle sich dann eine grössere Anzahl zeigt. Aus alle dem erhellt, das man speciell, was Vorkommen und Vertheilung anbelangt, nur grobe, auffällige Unterschiede in Rechnung ziehen darf. Als negativ wurden nur die Zellen bezeichnet, wo auch nicht die feinsten rothen Punkte im Protoplasma zu finden waren.

Von diesem Standpunkt aus wurden die Untersuchungsergebnisse verwerthet.



Wenn wir nun die Reihe unserer Versuche überblicken, so muss wohl zugegeben werden, dass der Befund Negri'scher Körper für Lyssa gegenüber normalen Kaninchen, dem mit Tetanus und Dysenterie vergifteten Kaninchen, dem Tetanushund und dem an Tetanus verstorbenen Menschen specifisch ist. Meine Befunde bestätigen und erweitern zum Theil die von Marzocchi (13), der die Specifität der Negri'schen Einschlüsse strychninvergifteten Fröschen und Kaninchen, ferner tetanuserkrankten Hunden gegenübernachwies; auch in dem Gehirn eines epileptischen, sowie in dem eines syphilitischen Menschen konnte Marzocchi ähnliche Gebilde nicht finden.

Hingegen konnte ich in zwei Fällen menschlicher Lyssa, ferner bei acht Strassenhunden (sechs wurden, da nicht weiter verwendet, in die Protokolle nicht aufgenommen) die Negri'schen Körper deutlich und zahlreich finden. Ihre Grösse bei den Strassenhunden übertraf nicht die von Negri angegebenen Zahlen (10 bis 15 μ), doch auch bei den menschlichen Fällen lässt sich eine gewisse Analogie mit den bis jetzt beschriebenen finden. Luzzani gibt bei ihrem Ammonshornbefunde Grössen von 5 bis 6 bis 7 μ an, Bertarelli und Volpino 2—6—8 μ. In dem einen meiner Fälle betrug ihre Grösse 4 bis 5 μ, im zweiten Fall meist 8 μ, also in allen Fällen weniger als durchschnittlich beim Strassenhund.

Was die Eintheilung[1] der Negri'schen Einschlüsse in meinen Präparaten anbelangt, nämlich 1. complex mit mehreren ringartigen Einschlüssen, 2. solche mit einem ringartigen Einschluss und 3. homogene bis punktförmige, so zeigt sich nach den Abbildungen, die Negri und Luzzani ihren Arbeiten beigeschlossen haben, deutlich der Unterschied zwischen den sub 1 und 2 erwähnten Formen. Nun hat Maresch die Vermuthung ausgesprochen, es könnten sich nach seiner Methode ein Theil der nach Mann einfach gebauten Körper doch als complex gebaute entpuppen. Ich hatte Gelegenheit, die nach Mann gefärbten Präparate mit den nach Maresch angefertigten zu vergleichen und muss zugeben, dass sich mit dem Imprägnationsverfahren Pünktchen zur Darstellung bringen lassen, die nach Mann sicherlich nicht darstellbar sind, und dass ein Theil, die grösseren, einfach gebauten Einschlüsse vielleicht nach dem Vorgang von Maresch unter jene Körper gehören, die in der Mitte ein centrales Korn mit regelmässig angeordneten feinsten Körnchen im Umkreis aufweisen, von denen Maresch eines in der zweiten Reihe der Zeichnungen, Mitte, abbildet. Auch mögen vielleicht einige ovale Ein-

[1] Ein Theil der Befunde wurde der Gesellschaft der Aerzte in Wien in einer Demonstration vorgelegt. Daselbst auch die Eintheilung. *Wiener klin. Wochenschr.* 1905. Nr. 25.



schlüsse bei Kaninchen, die in ihrem Inneren nach Mann helle Punkte aufweisen, unter die complexen Formen gerechnet werden. Diese Anschauung würde zwar die Resultate meiner Versuche um einiges verschieben, aber im Wesentlichen nichts daran ändern können.

Zur dritten Gruppe möge aber noch einiges erwähnt werden. Luzzani hat bei Besprechung ihres Falles menschlicher Lyssa feinste rothe Körnchen in den Zellen des Gasser'schen Ganglion und des Ganglion nodosum beschrieben, über deren Natur sie sich nicht aussprechen will. In Fig. 4 und 5 der beigegebenen Tafel sieht man auch in einzelnen Zellen diese feinen, zu Haufen vereinigten rothgefärbten Punkte angegeben. Ich habe nun Ganglion nodosum und Gasseri in meine Untersuchung nicht mit einbezogen, fand aber in den Zellen des Ammonshorns und Kleinhirns (Purkinje'sche Zellen) und zwar nicht nur beim Strassenhund, sondern auch beim Durchgangsvirus-Kaninchen und Hund Pünktchen, welche den von Luzzani gezeichneten vollständig gleichen, nur mehr zerstreut, nicht herdweise auftreten; beim Hund „Hruda von der 45. Kaninchenpassage“ bilden solche im Protoplasma verstreute Pünktchen in manchen Purkinje'schen Zellen den einzigen Befund. Da ich in den Controlpräparaten auch diese feinsten Pünktchen im Ammonshorn und Kleinhirn nicht finden konnte, ferner ihr Auftreten bei der Lyssa stets, wenngleich mit wenigen Negri'schen Körperchen erster oder zweiter Kategorie zusammenfiel, von denen sie sich, was Färbung, Lichtbedingungsvermögen und Schärfe des Contours anbelangt, nicht unterscheiden, so zähle ich diese Punkte in Ammonshorn und Kleinhirn der dritten Kategorie Negri'scher Körper bei.[1]

Es möge nun zur morphologischen Deutung der Einschlüsse, soweit es meine Präparate gestatten, noch einiges erwähnt werden. Dass die Deutung, ob Parasit oder Degenerationsproduct auf grosse Schwierigkeiten stossen würde, lehrt schon die Erfahrung, die bei anderen contagiösen Krankheiten mit Zelleinschlüssen gemacht wurde. Die Morphologie der Einschlüsse bei Variola, Vaccine, Maul- und Klauenseuche, Molluscum contagiosum u. s. w. wurde in einer grossen Anzahl ausführlicher Arbeiten festgestellt, so von Pfeiffer, Hückel, Wasielewski, Bosc, Schrumpf u. s. w. Die Morphologie dieser Einschlüsse ist allerdings mannigfaltig gegenüber den fast conformen Einschlüssen bei der Lyssa. In einem Punkt haben alle diese Arbeiten zu keinem übereinstimmenden Resultat geführt, es ist dies die Deutung der Einschlüsse. Arbeit auf

[1] Pace konnte bei seinen Untersuchungen, die mir leider im Original nicht zugänglich sind, nicht specifische, nach Mann rothe Granula in „Cerebrospinalganglien“ nachweisen, die vielleicht den von Luzzani gefundenen entsprechen. *Riforma med.* 1904. Nr. 25.



Arbeit haben widersprechende Folgerungen gebracht, so dass gleichviel Autoren für die Deutung als Degenerationsproduct, gleichviel für die Parasitennatur sich ausgesprochen haben. Man hat es hier meist mit persönlichen Ansichten, keineswegs mit gut fundirten Beweisen zu thun.

Eine Reihe der obenerwähnten Einschlüsse hat man als Zerfallsproducte von Leukocyten gedeutet. Diese Erklärung entfällt bei den Negri'schen Körperchen wohl von selbst. Auch die nach der Mann'schen Methode häufig roth gefärbten Gliazellen, die oft den Ganglienzellen innig angelagert sind, mitunter auch in ihrem Protoplasma zn liegen scheinen, haben, selbst im pyknotischen Zustand, keinerlei Aehnlichkeit mit Negrischen Körperchen.

Als Degenerationsproduct wäre die Ableitung aus Kern oder Protoplasma in Erwägung zu ziehen. Bei einer grossen Zahl von Präparaten hat auf den ersten Blick die Ansicht viel Bestechendes, dass chromatische Substanz etwa in Form von Nucleolen aus dem Kern auswandere. Dieser Process ist bei Pflanzenzellen (14) sicher gestellt, bei Thierzellen schon zur Erklärung von Einschlüssen, so von Carcinomeinschlüssen unter Anderen auch von Apoland und Emden (15) herangezogen worden.

Aehnlichen Bildern, wie sie Apolant und Emden gegeben haben, kann man auch bei Ganglienzellen begegnen; man findet einen grösseren Nucleolus in einer Kernausbuchtung mitunter in der Kernwand selbst, mitunter einen Nucleolus im Kern, einen im Protoplasma. Dazu kommt noch in Betracht, dass die Nucleolen grösserer Ganglienzellen mitunter nach Zenker und Mann eine deutliche Structur zeigen — hat ja doch schon Held (16) die Vermuthung ausgesprochen, die Nucleolen beständen noch aus Granulis. Die Structur der Nucleolen hat jedoch nur selten Aehnlichkeit mit der kleiner Negri'scher Körper.

Erkennt man die Bilder, in denen der Nucleolus noch mit einem Kernwandfetzen versehen ist oder ein Defect der Kernwand selbst sichtbar ist, leicht als Kunstproducte, so sehe ich mich genöthigt, auch alle anderen noch so verlockenden Bilder des Nucleolaraustrittes bei mir als Kunstproduct zu deuten, da sie nämlich einem Postulat, das bereits Schmaus und Albrecht (17) bei Besprechung der Stolnikow'schen Arbeit gestellt haben, nicht entsprechen, nämlich die Ausbuchtung des Kernes sowie das Austreten der Nucleolen stets mit nur geringen Abweichungen nach einer Richtnng hin erfolgt, so dass wir es mit einem Kunstproduct zu thun haben, verursacht durch das Messer. Erst kürzlich hat Spalteholz (18) wieder eindringlich auf diesen Factor aufmerksam gemacht. Zur Erklärung der grossen Negri'schen Körperchen wäre der Vorgang der Nucleolarauswanderung nicht hinreichend und überdies lassen sich dem entgegen die nicht seltenen Bilder hervorheben, in denen



Negri'sche Körperchen, dem Kern angelagert, die Kernmembran deutlich nach innen verdrängen.

Gegen die Deutung als Degenerationsproduct, entstanden aus dem Protoplasma, kann ein Beweis nicht erbracht werden.

Es möge nur die allgemeine Beobachtung hier Platz finden, dass gerade die Zellen, welche Negri'sche Körperchen beherbergen, keine auffallende Veränderung im Vergleich zu normalen Ganglienzellen darbieten, während die Zellen, welche Veränderungen des Protoplasmas und des Kernes zeigen, frei von Negri'schen Körperchen sind.

Gegen eine künstliche Granulabildung durch Fixirung liesse sich vieles einwenden. Sie erscheint schon ausgeschlossen durch die Methode von Matesch, bei der doch mit Formol fixirt wird. Der so fixirte und mit dem Gefriermikrotom angefertigte Schnitt wird mit Silbersalz imprägnirt.

Ein Zusammenhang mit Altmann'schen Granulis besteht, wie ich mich an einer Reihe von Präparaten (Mensch „F. L.“ und einige nicht ins Protokoll aufgenommene Strassenhunde) überzeugen konnte, nicht. Was die Filterversuche betrifft, so ergiebt sich auf Grund meiner Präparate Folgendes:

Die ausserordentliche Mannigfaltigkeit der Grössenverhältnisse Negri'scher Körper ermöglicht jedwedes Resultat bei den Filterversuchen, die ja in der Hand verschiedener Autoren auch recht verschieden ausgefallen sind. Es gibt unter den Negri'schen Körperchen überall solche, die kleiner sind als ein Choleravibrio, so dass auch ich der Ansicht Schüder's (19), die Negri'schen Körperchen könnten auf Grund seiner Filterversuche nicht die Erreger sein, entgegentreten muss, wie dies ja auch schon von anderer Seite geschehen ist.

Fahren wir nun in der Betrachtung der Präparate fort, so zeigt es sich, dass beim Hund „R“ die Negri'schen Körperchen die Grösse von 6—8—10 μ im Ammonshorn, 7—8 μ im Kleinhirn erreichen; beim Kaninchen der ersten Passage sind im Ammonshorn die grössten Formen bis 4 μ, desgleichen im Kleinhirn bis 4 μ gross; bei der Ratte der gleichen Passage erreichen die Körperchen im Ammonshorn die Grösse von 2 μ, im Kleinhirn selten bis 4 μ. Beim Hund „L“ sind die Körperchen im Ammonshorn bis 8 und 12 μ gross beim Kaninchen der ersten Passage 1 bis 4 μ. Im Fall „F. L.“ erreichen die Körperchen im Ammonshorn die Grösse von 4 bis 5 μ beim Menschen, bei den Kaninchen der ersten Passage einmal 2 μ, einmal bloss 1 μ im Ammonshorn, 1 bis 4 μ im Kleinhirn, der Hund von dieser Passage weist im Ammonshorn wieder Körper bis zu 8 μ, im Kleinhirn bis zu 7 μ Grösse. Hier möge auch noch das Grössenverhältniss, wie es sich bei „Karwin“ 25. Passage findet, angeführt werden: das



Kaninchen im Ammonshorn und Kleinhirn Grössen bis 4 μ, das Meerschweinchen und die Ratte Grössen von 1 bis 2 μ. Erwägt man noch die ziemlich constante Grösse bei einzelnen Klassen, z. B. wie oben beim Menschen, ferner die Befunde Negri's, der seine Körper beim Kaninchen stets kleiner fand als beim Hund, ferner noch den von anderen Autoren erhobenen Befund sehr grosser, grob structurirter Körper beim Rind, so kann man wohl den Satz aufstellen, dass die Variabilität der Negri'schen Körperchen, was ihre Grösse, nicht die Art ihrer Structur anbelangt, abhängig ist von der Thierart, hiermit von der Zelle.

Vergleichen wir nun die Localisation Negri'scher Körper mit dem klinischen Bilde der Krankheit. Wir müssen uns zu diesem Zweck an möglichst gleiche Passagen halten, während die Thierart nicht die gleiche sein muss; es bestehen ja hier bei Differenz nur Grössenunterschiede der Körper. Da könnten wir zunächst die ersten Passagen von „F. L.“ und die erste Passage vom Hund „L.“ vergleichen. In ersterem Fall war das klinische Bild eine Zwischenstufe zwischen rasender und paralytischer Wuth, in letzterem hatten wir typisch paralytische Wuth. In ersterem Fall fanden sich die Negri'schen Körperchen im Ammonshorn, reichlicher im Kleinhirn, spärlich im verlängerten Mark, nicht im Rückenmark. Im zweiten Fall (Hund „L“) fanden sich Negri'sche Körperchen im Ammonshorn, Kleinhirn und Rückenmark. (Solche Beispiele lassen sich auf Grund der Protokolle noch in grösserer Anzahl finden.) Einen trefflichen Vergleich gestatten jedoch beim Virus „Karwin“ Meerschweinchen und Kaninchen einerseits, Ratte anderseits; die beiden ersten Thierarten erkrankten an typischer rasender Wuth, die Ratte an typischer paralytischer Wuth (wie aus den Protocollen ersichtlich, wurden die gleichen Passagen zum Vergleich herangezogen). Der Befund an Negri'schen Körperchen ist bei allen drei Thieren im Ammonshorn positiv, wenn auch spärlich, im Kleinhirn reichlich positiv, im verlängerten und im Rückenmark negativ. Wollen wir auch vollständiger Sicherheit halber den übrigens analogen Befund im Rückenmark vernachlässigen, so müssen wir dennoch zugeben, dass, was die Localisation der Negri'schen Körper anbelangt, eine Differenz bei verschiedenem klinischen Bilde nicht gefunden werden konnte.

Hier möchte ich auch noch den Hund „Karwin“ erwähnen. Es fanden sich weder beim Hunde, dessen Wuth durch die biologische Probe festgestellt wurde, noch beim Controlhund Negri'sche Körperchen. Negri und seine Nachuntersucher haben in den negativen Fällen, in denen sie wohl nur Ammonshorn oder auch Kleinhirn untersucht hatten, abnorme Localisation angenommen.

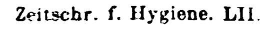


In unserem Fall wurde zwar beim Controlhund nur Ammonshorn und Kleinhirn, beim Hunde mit sicherer Lyssa jedoch auch verlängertes Mark, Rückenmark und Spinalganglien mit negativem Erfolg durchsucht, so dass hier eine Erklärung nicht gegeben werden kann, insbesondere, da die anderen Thiere gleicher Virusprovenienz die Negri'schen Körperchen stets typisch zeigten.

Es bleibt nun nur mehr übrig, unsere Präpararte in Hinblick auf Passage, Incubationszeit und Krankheitszeit zu betrachten. Es fügt sich der Begriff der Krankheitsdauer in willkommener Weise dem der Incubationszeit an, da wir doch wissen, dass ein Centralnervensystem vor dem Ausbruch der ersten Symptome virulent sein kann [Remlinger (20)]; und diese Symptome sind es ja, die den Begriff der Incubationszeit bilden. Und gerade für die Ausbildung eines Degenerationsproduktes käme die Gesammtzeit in Betracht, die das Virus auf eine Zelle einwirken kann.

Bei Hund „R" war der Befund im Ammornshorn und Kleinhirn sehr reichlich, beim Kaninchen und Ratte der ersten Passage im Ammonshorn spärlich, im Kleinhirn reichlich; bei Hund „L" fanden sich im Ammonshorn reichlich Negri'sche Körperchen, desgleichen beim Kaninchen erster Passage reichlich im Ammonshorn und Kleinhirn. Bei Virus „F. L." waren beim Menschen im Ammonshorn sehr zahlreiche, im Kleinhirn spärliche Körperchen zu finden, beim Kaninchen der ersten Passage im Ammonshorn und Kleinhirn war der Befund spärlich, gleichfalls beim Kaninchen zweiter Passage. Beim Virus „Ps" fanden sich im Ammonshorn des Menschen sehr zahlreiche Körperchen, desgleichen in dem der zweiten und dritten Kaninchenpassage. Der Befund im verlängerten und Rückenmark war wechselnd. Mitunter überwogen die complex gebauten mitunter die einfach gebauten Körperchen. Es lässt sich also bei diesen wechselnden Befunden ein durchgreifender Unterschied in Vertheilung und Form der Negri'schen Körper in der ersten bis dritten Kaninchenpassage nicht festsetzen.[1] (Vergl. dazu noch die analogen Befunde in den übrigen Protokollen der ersten Kaninchenpassagen.)

Betrachten wir nun den Befund beim Virus „Karwin", einem Virus, das bereits mehr als 25 Mal durch Kaninchen passirt ist, so sehen wir nur bei der neunten Kaninchenpassage reichlichen Befund im Ammonshorn, der allerdings von dem im Kleinhirn an Zahl noch übertroffen wird. Bei den übrigen Passagen fällt auf, dass ganz unabhängig von der Thier-



[1] Der leichteren Uebersicht halber befindet sich am Schluss der Arbeit eine Tabelle mit den wichtigsten Thieren.



art der Befund im Ammonshorn ein sehr spärlicher[1], im Kleinhirn hingegen reichlicher, im verlängerten und Rückenmark negativ ist. Dabei ist die Zahl der complex gebauten Körperchen im Allgemeinen eine geringere als die der einfachen und punktförmigen.[2] (Es möge gleich hier bemerkt werden, dass der Fortgang der Negribefunde mit den Passagen mitunter geringe Unregelmässigkeiten aufweist, so einen verhältnissmässig geringen Befund an Negri'schen Körperchen bei der vierten Passage, eine verhältnissmässig grosse Anzahl complex gebauter Körperchen bei der 25. Kaninchenpassage.)

Beim Virus „Hruda", das jetzt bereits über 45 Kaninchenpassagen zählt, ist der Befund im Ammonshorn, Kleinhirn und verlängerten Mark bei der 40. Kaninchenpassage negativ, bei der 45. Kaninchenpassage negativ im Ammonshorn, verlängerten Rückenmark; im Kleinhirn finden sich die beschriebenen rothen Körnchen (vgl. die Protokolle), so dass wir hier den Befund als fraglich[3] hinstellen wollen. Beim Hund von der 45. Kaninchenpassage ist der Befund in allen Theilen, auch verlängertem Mark, Rückenmark und Spinalganglien, negativ mit Ausnahme des Kleinhirns, wo sich Negri'sche Körperchen finden.

Beim Virus fixe (Kaninchen 713. und 755. Passage, Hund von der 756. und 757. Passage) war der Befund im Ammonshorn, Kleinhirn, verlängertem Mark und Rückenmark, auch in Spinalganglien negativ.

Betrachten wir nun den Einfluss der Incubationszeit bezw. Krankheitsdauer, so sehen wir bei einem Ueberblick über die ersten Kaninchenpassagen, dass sie, was Vertheilung, Zahl und Form der Negri'schen Körper anbelangt, belanglos ist; so z. B. vergleichen wir Virus „F. L." die Kaninchen zweite Passage „A" und „B", so sehen wir einerseits Incubationszeit von 13, andererseits von 20 Tagen, eine Krankheitsdauer einerseits von 19, andererseits von 23 Tagen, ohne dass der Befund an Negri'schen Körpern wesentlich geändert wäre.

Wir finden beim Virus „Karwin" Incubationszeiten von 8, $7\frac{1}{2}$, 6 Tagen, eine Krankheitsdauer von 7 und 10 Tagen, beim Virus „Hruda" Incubationszeiten von 6 bis 7 Tagen, eine Krankheitsdauer von ca. 9 Tagen, beim Virus fixe eine Incubationszeit von 6, $6\frac{1}{2}$ bis $7\frac{1}{2}$ Tagen, eine

[1] Als sehr spärlich wird der Befund dann bezeichnet, wenn in einigen Schnitten nur ein Körperchen, als spärlich, wenn in jedem Schnitt mindestens eins sich findet.

[2] Da bei der Demonstration (*Wiener klin. Wochenschrift*, 1905, Nr. 25) hauptsächlich auf die 4. und 9. Passage Rücksicht genommen wurde, erscheint doch die Anzahl der complexen Formen im Ganzen etwas zu gering angegeben.

[3] Der sichere positive Befund jedoch beim Hund der gleichen Passage im Vereine mit dem früheren Gesetz der Abhängigkeit der Grösse von der Thierart, bildet einen Beweis mehr für die Natur dieser Körnchen beim Kaninchen.



Krankheitsdauer von 9, $9^1/_2$ bis 13 Tagen, also Zeitangaben von geringem oder gar keinem Unterschied mit grossen Differenzen in Bezug auf den Befund Negri'scher Körperchen.

Nehmen wir den negativen Befund im verlängerten Mark, im Rückenmark und in den Spinalganglien bei den Passagen vorweg, so zeigt es sich, dass die Variabilität der Negri'schen Körperchen, was ihre Structur, ihre Vertheilung und ihr Vorkommen überhaupt in Ammonshorn und Kleinhirn anbelangt, unabhängig ist von der Incubations- und Krankheitszeit[1], abhängig ist von der Anzahl der Passagen. Bei häufigen Passagen schwinden zunächst die complexen, dann auch die einfachen und punktförmigen Körperchen aus obengenannten Gehirngegenden und zwar zunächst aus dem Ammonshorn, in zweiter Linie aus dem Kleinhirn, so dass nach zahlreichen Passagen der Befund in Ammonshorn und Kleinhirn negativ ist.

Dieser Befund mag vielleicht auch deshalb von Interesse sein, da wir eine wissenschaftlich sichere Unterscheidung zwischen Uebergangsvirus und Virus fixe nicht besitzen, man müsste denn die Incubationszeit eine solche nennen. Nun haben mich meine Impfversuche mit Virus fixe gelehrt, dass häufig bei gleichen Passagen, auf mehrere Kaninchen übertragen, in der Incubationszeit Unterschiede bis 24 Stunden vorkommen. Högyes (21) gibt an, dass das Virus des Pasteur'schen Institutes noch nach der 133. Passage seine Incubationszeit um einen Tag änderte; und da hätten wir dann die 133. Passage noch nicht als Virus fixe zu bezeichnen? Vielleicht gelingt es, natürlich noch nach sorgfältigen Untersuchungen an anderen Thierklassen, auf Grund des positiven oder negativen Befundes im Ammonshorn und insbesondere im Kleinhirn eine Grenze zwischen Uebergangsvirus und Virus fixe zu setzen.

Bei den einzelnen histologischen Befunden wurde noch stets der Gefässveränderungen gedacht. Da sich jedoch ein sicheres Verhältniss zwischen Negri'schen Körperchen und Gefässveränderungen auf Grund der Präparate vorläufig nicht nachweisen lässt, so möge nur auf die Protokolle verwiesen werden.

Eine Deutung der Negri'schen Körper zu geben, habe ich absichtlich unterlassen, da sie mir auf Grund der vorliegenden Resultate nicht möglich erscheint und ich es nicht bei blosser Vermuthung bewenden lassen will. Auffallend ist jedenfalls das Fehlen der Körperchen bei Virus fixe.

[1] Wiewohl selbstverständlich möge hier bemerkt werden, dass diese Resultate die Versuche Negri's und Volpino's, die bei Beginn der Krankheit nur kleine Körperchen fanden, nicht tangiren.

14*



Protokolle.

Controlversuche an normalen und an mit Dysenterie- und Tetanustoxin vergifteten Thieren.

Es wurden im Ganzen sieben Kaninchen mit Dysenterietoxin vergiftet. Und zwar gelangten 2 ccm eines Filtrats einer Dysenterie Kruse-Cultur zur Verwendung, doch wurden auch Thiere untersucht, welche bei 60° abgetödtete Culturaufschwemmungen und zwar 2 ccm intravenös oder subcutan erhalten hatten. Die Erscheinungen waren typisch, so dass nach 2- bis 3tägiger Incubation Lähmungen und zwar meist zunächst der hinteren, dann der vorderen Extremitäten auftraten. Völlig gelähmt, auf der Seite liegend, gingen die Thiere nach 24- bis 36stündiger manifester Krankheitsdauer ein.

Weder im Ammonshorn, noch im Kleinhirn oder Rückenmark fanden sich Einschlüsse irgend welcher Art. Dass ich mich der Zenker-Mann'schen Methode bediente, braucht wohl kaum erwähnt zu werden.

Drei Kaninchen wurden mit Tetanustoxin behandelt und zwar mit der 100fachen der für Meerschweinchen letalen Dosis. Nach 3tägiger Incubation traten typische Tetanuserscheinungen auf; nach 48stündiger Dauer der Erscheinungen gingen die Thiere ein.

Der Befund an Negri-ähnlichen Gebilden war vollständig negativ, desgleichen negativ im Ammonshorn eines mit Tetanus vergifteten Hundes.

Ferner kamen zur Untersuchung Theile aus dem Centralnervensystem eines an Tetanus gestorbenen Mannes.[1]

Ein 47jähriger Strassenarbeiter hatte sich am 1. V. 1905 einen rostigen Nagel in den Fuss getreten. Am 7. V. Steifigkeit des Nackens, der bald Starre in den unteren Extremitäten und Streckkrämpfe folgten. Risus sardonicus., 8. V. Exitus.

Der thierexperimentelle Nachweis machte die Diagnose Tetanus zur Gewissheit. Bei der Obduction fand sich ausser der Operationswunde behufs Entfernung des Fremdkörpers Gehirnhyperämie; Degeneration innerer Organe.

Histologische Untersuchung: Die Purkinje'schen Zellen frei von Einschlüssen; in den Zellen des Ammonshorns einzelne lichtere Partieen nicht scharf umgrenzt, die einer Pigmentdegeneration dieser Zellen entsprechen. Noch in bedeutend ausgedehnterem Maassstab findet sich diese Erscheinung an den Zellen des Rückenmarkes. Man kann fast in jeder Zelle ein mehr oder minder scharf begrenztes rundes oder ovales Gebiet finden, das in seinem Inneren schollig gebaut, nach der Mann'schen Methode sich orangegelb färbt. Diese Pigmentdegenerationen können auch nicht annähernd mit den Negri'schen Einschlüssen verglichen werden.

[1] Die Krankengeschichten, sowie Obductionsbefunde kamen nur auszugsweise, soweit eben für vorliegende Arbeit von Interesse, zur Verwendung.

Für die Ueberlassung dieser Krankengeschichte danke ich Hrn. Prim. Prof. Obermayer bestens.



Bei drei normalen, sowie bei einem nach Seruminjection eingegangenen Kaninchen war der Befund ganz negativ.

Versuche mit Lyssa.

1. Strassenlyssa.

Hund „R" 14. I.[1]

Der Hund war, da er einige Leute gebissen hatte, als wuthverdächtig dem Thierspital eingeliefert worden, wo er 4 Tage lang mit typischer rasender Wuth beobachtet wurde. Es standen mir Ammonshorn, Hirnrinde und Kleinhirn zur Verfügung.

Histologischer Befund:

Im Ammonshorn finden sich sehr zahlreiche Negri'sche Körperchen und zwar aller drei Kategorien, ihre Grösse bis 10 μ; keine Gefässveränderungen.

Gehirnrinde: Zahlreiche Einschlüsse aller Art, die grössten beobachteten Formen übersteigen 8 μ nicht; den Centralwindungen entsprechend zahlreiche runde, meist kleinere Körper, im Durchmesser 4 μ, und darunter.

Kleinhirn: In den Purkinje'schen Zellen zahlreiche, vorwiegend complex gebaute Formen, die eine Grösse von 7 bis 8 μ häufig erreichen. Keine Gefässveränderungen.

Kaninchen der 1. Passage.

Am 14. I. werden zwei Kaninchen inficirt. Das eine Thier geht an Gehirnabscess den 27. I. ein. Das zweite Thier zeigt am 30. I. Symptome von Lyssa, Vormittags Schüttelbewegungen des Kopfes, Unruhe; Nachmittags Schwäche, beginnende Paralysen.

31. I. Deutliche Paralysen, das Thier liegt auf der Seite.

1. II. Exitus. Incubationszeit 16 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen $2^1/_2$ Tage. Gesammtdauer der Krankheit $18^1/_2$ Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Spärliche Negri'sche Körperchen, und zwar complex gebaute, meist längliche Formen, die in seltensten Fällen 4 μ um eine kaum messbare Grösse überschreiten, meist jedoch runde einfache Formen von 2 μ und darunter.

Kleinhirn: Die Negri'schen Körperchen zahlreich, die grossen complexen Formen, die 4 μ nicht übersteigen, in der Minderzahl; kleine runde, einfach gebaute und punktförmige von 2 μ und darunter in der Mehrzahl; häufig eine grosse Anzahl in dem Protoplasma einer Zelle beisammen.

Rinde (Basis und Convexität): Aeusserst spärliche, kleine punktförmige Einschlüsse.

Verlängertes Mark: In einzelnen Zellen, im Ganzen äusserst spärlich Einschlüsse, welche 2 μ nicht überschreiten. Hier zeigen sich im Gegensatz zu den anderen Partieen deutliche perivasculäre Infiltrate.

[1] Das Material an Hunden erhielt ich durch die Liebenswürdigkeit Hrn. Dr. Hartl's von der thierärztlichen Hochschule, wofür ich ihm bestens danke.



Rückenmark: Die Ganglienzellen grösstentheils auffallend verändert, ohne jedoch ein Negri'sches Körperchen auffinden zu lassen.

Ratte der 1. Passage.

Am 14. I. wird mit der gleichen Emulsion eine Ratte inficirt.

26. I. Auf Anblasen oder Berührung heftigere Reaction wie früher.

27. I. Auffallende Unruhe, die Füsse werden beim stetigen Umherwandern gespreitzt gehalten.

28. I. Angeblasen, springt die Ratte unter lautem Aufschrei an den Deckel des Käfigs. Gegen einen hingehaltenen Stab wendet sie sich mit schnappenden Bewegungen. Während des Tages wiederholtes Aufspringen gegen den Deckel, so dass der Nacken von Haaren gescheuert erscheint.

29. I. Morgens Exitus.

Also typische rasende Wuth.

Incubationszeit 12 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen 3 Tage. Gesammtdauer 15 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Spärliche Negri'sche Körperchen, manche in den Zellausläufern oval, die meisten jedoch rund, klein bis punktförmig, Formen über 2μ grösster Ausdehnung konnten nicht gefunden werden. Nur in sehr wenigen lassen sich 2 bis 3 lichte Punkte erkennen.

Kleinhirn: Es zeichnet sich durch ausserordentlich grossen Reichthum an Negri'schen Körpern aus; sehr selten ovale Formen mit 2 bis 3 lichten Punkten im Inneren; meist runde, kleine Körper. Die grössten erreichen eine Länge bis 4μ, die meisten 2μ und darunter.

Rinde: Sehr spärlich äusserst kleine, punktförmige Körperchen.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körperchen; perivasculäre Infiltrate.

Rückenmark: Keine Negri'schen Körperchen; perivasculäre Infiltrate.

Hund „L“ 15. I.

Der Schädel wurde aus der Provinz eingesendet, da der Hund eine Reihe von Personen gebissen hatte und wuthverdächtig war; nähere Daten unbekannt.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Ausserordentlich zahlreiche Negri'sche Körper; die complex gebauten Formen überwiegen an Zahl bedeutend, oft 5 bis 6 in einer Zelle; Formen von der Grösse von 8μ gehören zur Norm, doch sind auch solche von 12μ Länge nicht selten. Die Zahl der einfach gebauten Körper im Vergleich äusserst gering. Gefässveränderungen angedeutet.

Rinde: Negri'sche Körper spärlich bis zu 4μ Länge; keine Infiltrate.

Kaninchen der 1. Passage.

Vom Stirnhirn wird Kaninchen 263 am 17. I. inficirt.

30. I. Paresen der Extremitäten.

1. II. Exitus.

Exquisit paralytische Form. Incubationszeit 13 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen $2^1/_2$ Tage. Gesammtdauer der Krankheit $15^1/_2$ Tage.



Histologischer Befund:

Ammonshorn: Zahlreiche Negri'sche Körper, die meisten einfach gebaut, doch auch complexe nicht über 4 μ Länge. Die meisten unter 2 μ.

Kleinhirn: Fast in jeder Purkinje'schen Zelle einige Körperchen, und zwar einfache unter 2 μ, jedoch auch complexe bis zu 4 μ; die letzteren in der Ueberzahl.

Rinde: Sehr kleine, spärliche Einschlüsse.

Rückenmark (Halstheil): Die Ganglienzellen stark verändert. In 30 durchgesehenen Schnitten, von denen jeder eine erkleckliche Zahl von Ganglienzellen aufwies, fand sich eine Zelle mit drei runden Körperchen unter 1 μ, eine Zelle mit ca. 30 runden kleinen Körperchen unter 1 μ, eine Form von der Länge von 6, eine von 4 μ. Die mit Negrikörpern besetzten Zellen erscheinen nicht so stark verändert wie die freien.

In keinem der Theile Gefässveränderungen.

Virus „F. L."

Das Virus stammt von dem 7jährigen Maurerssohn F. L. Er wurde am 6. XI. von einem wuthverdächtigen Hunde in die linke Wange gebissen.

Am 8. XI. Aufnahme. An der linken Wange zwei Bisswunden, beide ca. 2 ^{cm} lang, die eine $1^1/_2$ ^{cm}, die andere $2^1/_2$ ^{cm} tief, dann noch eine 1 ^{cm} und eine 7 ^{mm} lange seichte Bisswunde; die linken Augenlider stark entzündlich, ödematös. Keine Schleimhautverletzung, Parese des linken Mundfacialis. Localbehandlung; Schutzimpfung vom 8. bis 21. XI.

Am 4. XII. stellten sich die Symptome der Wuth, Hydrophobie und Aerophobie ein, am 8. XII. trat der Exitus letalis ein.

Incubationszeit 28 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 4 Tage. Gesammtdauer der Krankheit 32 Tage.

Der Obductionsbefund ergab die Hirnrinde ziemlich blutreich, blassviolett; die Marksubstanz ist reichlich von Blutpunkten durchsetzt. Die Basalganglien nicht besonders dunkel. Der Nervus facialis ohne Veränderung; Rückenmarkshäute und Rückenmark ohne wesentlichen Befund.

Es standen mir Ammonshorn und Kleinhirn zur Verfügung.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Die Färbung ist insofern nicht so gut gelungen, als die Negri'schen Körper nicht leuchtend roth, sondern eher violett gefärbt sind (Luzzani ist ähnliches bei ihrem Fall menschlicher Wuth widerfahren).

Vorwiegend kleine runde Formen, theils mit einem ringartigen Gebilde, theils homogen bis punktförmig, diese jedoch äusserst zahlreich, in manchen Zellen 10 bis 12 Einschlüsse. Sehr wenig complex gebaute Körper, doch auch diese sind nicht grösser als 4 bis 5 μ. Es möge noch erwähnt werden, dass die Nucleolen im Gegensatz zu den Einschlüssen leuchtend roth gefärbt sind.

Bei Färbung mit Säurefuchsin sind zwar die Nucleolen leuchtend roth, die Negri'schen Körper jedoch kaum im Contour angedeutet. Fixation und Färbung nach Altmann lässt in vielen Zellen feine, gleich grosse Punkte erscheinen, die jedoch mit Negri'schen Körpern keinen Zusammenhang zeigen.

Rinde: Spärliche, kleine einfache Körperchen.

Kleinhirn: Spärliche, kleine, einfache Körperchen.



Kaninchen 1. Passage.

Infection den 26. XII. Am 7. I. deutliche Symptome, die sich vorwiegend in Nickbewegungen des Kopfes und Unruhe äussern. Lähmungen treten erst die letzten 24 Stunden in den Vordergrund.

10. I. Exitus.

Incubationszeit 12 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen 3 Tage. Gesammtdauer 15 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Sehr vereinzelte, kleine runde Körperchen; 2 μ und kleiner.

Kleinhirn: Sehr spärliche Einschlüsse, alle rund, klein, einfach. lassen keinen complexen Bau erkennen; ihre Grösse beträgt 1 μ und kleiner.

Verlängertes Mark: Befund sehr spärlich; die Körperchen klein. rund, 1 μ und darunter. Zahlreiche Zellen stark verändert, diese frei von Einschlüssen.

Nirgends deutliche Infiltrate.

Kaninchen II. Passage „A".

Infection den 11. I.

24. I. Nickbewegungen des Kopfes, Unruhe.

26. I. Status idem. Ein leichter Stoss genügt, das Thier gegen die Wand schnellen zu lassen. Im Käfig schlägt das Thier nicht herum.

29. I. Lähmungen.

30. I. Exitus. Uebergangsform zwischen paralytischer und rasender Wuth. Incubationszeit 13 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen 6 Tage. Gesammtdauer 19 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Die Körperchen sehr spärlich; man muss häufig einige Schnitte durchsuchen, um eines zu finden. Die Einschlüsse sind klein, rund, einfach; von der Grösse von 1 μ und darunter. Keine Gefässveränderungen.

Kleinhirn: Der Befund an Negri'schen Körperchen spärlich; auf ca. 10 Purkinje'sche Zellen eine mit Einschlüssen. Diese erreichen sehr selten die Grösse von 4 μ und weisen dann 2 bis 3 lichte Punkte in ihrem Inneren auf, die überwiegende Mehrzahl ist klein, einfach, 1 μ und darunter. Um einzelne Gefässe deutliche Infiltrate.

Rinde: In der Gegend der Centralwindung vereinzelte sehr kleine, punktförmige Körperchen; keine Gefässveränderungen.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körperchen, keine Infiltrate.

Rückenmark (Brustmark): Keine Einschlüsse, keine Gefässveränderungen.

Kaninchen 2. Passage „B".

Infection den 11. I.

31. I. Erste Krankheitserscheinungen, Form der Wuth wie bei „A".

2. II. Paralysen. 3. II. Exitus.

Incubationsdauer 20 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen 3 Tage. Gesammtdauer 23 Tage.



Histologischer Befund:

Ammonshorn: Einschlüsse in mässiger Anzahl; nur wenige erreichen die Grösse von 3 μ und lassen dann einige lichte Punkte in ihrem Inneren erkennen.

Die überwiegende Anzahl klein, rund, einfach von 1 μ Grösse und darunter. Keine Gefässveränderungen.

Kleinhirn: In einer ganzen Reihe von Präparaten konnte nur einmal eine grössere Form von 4 μ gefunden werden; sie enthielt zwei lichte Punkte in ihrem Inneren. Sonst nur Einschlüsse kleinen Kalibers, 1 μ und darunter. Sie sind in ziemlich gleicher Menge vorhanden wie im Ammonshorn. Keine Gefässveränderungen.

Verlängertes Mark: Ganglienzellen verändert. In einer Reihe von Schnitten nur zwei Negri'sche Körperchen unter 1 μ Grösse. Keine Gefässveränderungen.

Rückenmark (Hals- und Brustmark): Ganglienzellen meist verändert, keine Negri'schen Körperchen; keine Infiltrate um die Gefässe. Die Kerne der den Ganglienzellen angelagerten Gliazellen erscheinen häufig verändert, indem sie gequollen und bedeutend intensiver blau gefärbt sind als die normalen.

Hund von der 1. Kaninchenpassage.

Am 13. I. wird mit der 1. Kaninchenpassage ein Hund inficirt.

1. II. Der Hund erscheint melancholisch; fährt beim Berühren auf, beisst, wenn auch nicht sehr heftig, in einen hingehaltenen Stock. Der Zwinger ist an der Stelle des Kopfloches zerbissen.

2. II. Status idem.

3. II. Der Hund erscheint matt.

4. II. Morgens Paralysen; Abends Exitus. Der klinischen Form nach nicht ausgesprochen rasende Wuth.

Incubationszeit 19 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen $3^1/_2$ Tage. Gesammtdauer $22^1/_2$ Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Es finden sich Negri'sche Körperchen, jedoch nur sehr spärlich, jedenfalls an Zahl nicht zu vergleichen mit dem Ausgangsobject; die Formen sind meist bis 8 μ gross mit mehreren ringartigen Einschlüssen; auch kleine Formen sind sehr spärlich.

Kleinhirn: Nur äusserst vereinzelte 6 bis 7 μ grosse complexe Körperchen. Auch die kleinen Körperchen recht selten. Das Protoplasma der meisten Purkinje'schen Zellen erscheint stark vacuolisirt. Die Negrikörperchen sind bei diesem Object violett gefärbt.

Rinde: Negativer Befund.

Verlängertes Mark: Keine Einschlüsse, stark ausgebildete perivasculäre Infiltrate.

Rückenmark (Brust- und Halsmark): Die Ganglienzellen meist geschädigt; keine Negri'schen Körper. Sehr deutliche perivasculäre Infiltrate. Die Gliazellen häufig pyknotisch.

Spinalganglien (Hals- und Brusttheil): In vielen Ganglienzellen état spiremateux. Häufig zellige Infiltration. In einigen wenigen Ganglienzellen Negri'sche Körper von kleinen Dimensionen, 2 bis 4 μ, mit einem oder zwei ringartigen Innengebilden oder auch punktförmig.

Virus „Ps".

Das Virus stammt von dem 3jährigen Tagelöhnersohn Franz Ps. aus Chrasteslow in Mähren. Er wurde von einem wuthverdächtigen Hund den 14. XI. 1904 in die rechte Oberlippe gebissen.

28. XI. 1904 Aufnahme in's Spital. In der Mitte der rechten Oberlippenhälfte ist das Lippenroth und die Mundschleimhaut ca. 2 cm weit zerrissen. Locale Behandlung, Schutzimpfung, die vom 28. XI. bis 11. XII. währte.

18. XII. Die Wunde ist geheilt.

21. XII. Wasserscheu, Krämpfe, Cyanose des Gesichts. Unter Steigerung der Symptome am 24. XII. Exitus.

Incubationszeit 37 Tage, Dauer der manifesten Erscheinungen 3 Tage. Gesammtdauer 40 Tage.

Die Obduction ergab den der Verwundung entsprechenden Defect. Die Hirnwindungen etwas abgeflacht, die Rinde stark hyperämisch, blauviolett gefärbt, die Marksubstanz auch hyperämisch, die basalen Ganglien blauviolett, die graue Substanz des Rückenmarks ebenfalls hyperämisch.

Zur Verfügung standen mir Ammonshorn und Rinde.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Ausserordentlich zahlreiche Negri'sche Körperchen; fast jede Ganglienzelle enthält einige. Sie sind in überwiegender Mehrzahl complex gebaut, überragen nur selten die Länge von 8 μ um eine unmessbare Grösse. Formen von 8 μ Länge sind jedoch sehr häufig, auch einfach gebaute und punktförmige Körperchen, diese jedoch in der Minderzahl.

Rinde: Auch hier zahlreiche Einschlüsse in den Ganglienzellen, meist complex gebaut. Sie erreichen häufig die Länge von 8 μ.

Kaninchen 2. Passage.

Die erste Kaninchenpassage wurde histologisch nicht untersucht; von ihr wurde am 27. XII. ein Kaninchen inficirt.

15. I. Auftreten von Paralysen ohne vorhergegangene Unruhe.

18. I. Exitus. Incubationszeit 19 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 3 Tage. Gesammtdauer 22 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Sehr zahlreiche Negri'sche Körperchen. Unter ihnen zahlreiche complex gebaute bis zu 6 μ Länge; in beiläufig gleicher Menge auch einfache und punktförmige von 2 μ und darunter.

Kleinhirn: Die complex gebauten Körperchen in der Ueberzahl; sehr viele von ihnen erreichen die Länge von 6 μ.

Rinde: In einer Reihe von Präparaten nur zwei complexe Körperchen von 4 μ Länge, sonst nur einfache und punktförmige von 1 bis 2 μ und darunter.



Verlängertes Mark: Zahlreiche Zellen vacuolär verändert; in einer Serie von sechs Schnitten eine einzige Ganglienzelle mit Einschlüssen; sie erscheint nicht vacuolig verändert wie die anderen und enthält fünf einfach gebaute 3 bis 1 μ grosse Einschlüsse. Um die Gefässe deutliche, allerdings nicht sehr ausgedehnte Infiltrate.

Kaninchen 3. Passage „A".

Von der 2. Passage wird am 18. I. ein Kaninchen inficirt.

2. II. Deutliche Paralysen ohne vorhergegangenes Stadium der Aufregung.

6. II. Exitus.

Incubationszeit 15 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 4 Tage. Gesammtdauer 19 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Zahlreiche in der Ueberzahl complex gebaute Einschlüsse. Formen mit 4 μ Länge häufig, es kommen auch solche zu 6 μ vor, allerdings selten.

Kleinhirn: In den Purkinje'schen Zellen zahlreiche Einschlüsse, die Mehrzahl complex gebaut, erreichen jedoch nur in Ausnahmefällen die Grösse von 4 bis 5 μ.

Verlängertes Mark: Sehr vereinzelte, einfach gebaute Negri'sche Körperchen unter 2 μ Grösse. Perivasculäre Infiltrate deutlich, jedoch nur in geringer Ausdehnung.

Kaninchen 3. Passsage „B".

Am 18. I. wird noch ein zweites Kaninchen mit der 2. Passage inficirt.

4. II. Paralysen ohne Excitationsstadium.

10. II. Exitus.

Incubationszeit 15 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 6 Tage. Gesammtdauer 21 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Zahlreiche Negri'sche Körperchen, die complex gebauten in der Mehrzahl, ihre Grösse bis zu 6 μ.

Kleinhirn: Zahlreiche Negri'sche Körperchen, die complexen in der Mehrzahl.

Die Zahl der Negri'schen Körper erscheint sowohl im Ammonshorn als auch im Kleinhirn bei Thier „B" kleiner als bei Thier „A".

Verlängertes Mark: Sehr spärliche, kleine Einschlüsse. Gefässveränderungen wie bei „A".

Rückenmark (Halstheil): Negativer Befund an Einschlüssen.

2. Passagevirus.

Virus Karwin.

Das Virus rührt von einem Hunde her. Die erste Kaninchenpassage wurde am 1. VI. 1904 angelegt; die Thiere gingen am 10. VI. ein, ohne deutliche Wuthsymptome gezeigt zu haben. Am 11. VI. wurden die Kaninchen 2. Passage inficirt; die Thiere gingen am 21. VI. ein, nachdem sie vorher



die Symptome typischer rasender Wuth gezeigt hatten. Auch nun, da schon mehr als 25 Passagen gemacht wurden, erkranken die Kaninchen an rasender Wuth; sie schlagen gewaltig im Käfig umher; auf den Boden gesetzt, schnellen sie kerzengerade mit grosser Kraft an die gegenüberliegende Wand. Die Paralysen treten erst kurz ante exitum ein. Gleichfalls an rasender Wuth erkranken Meerschweinchen; Ratten jedoch weisen die Symptome paralytischer Wuth auf. Die Incubationszeit ist beim Kaninchen seit der 1. Passage stationär, nämlich 7 bis 8 Tage, die Krankheitsdauer 10 bis 11 Tage. Das Ausgangsgehirn stand mir nicht zur Verfügung. Zur Untersuchung gelangten die 4., 9., 19. und 25. Kaninchenpassage. Ferner wurden von der 24. Passage ein Meerschweinchen, von der 24. und 25. Passage je ein Hund, von der 24. Passage eine Ratte geimpft und zur Untersuchung verwendet.

Kaninchen 4. Passage.

Zur Untersuchung standen mir Ammonshorn, Kleinhirn und Hirnrinde zur Verfügung.

Ammonshorn: Sehr spärliche Negri'sche Körperchen, nur jede 40. bis 50. Zelle enthält Einschlüsse; diese klein, rund, einfach, Formen über 2 μ Grösse konnten nicht beobachtet werden. Die meisten bedeutend kleiner.

Kleinhirn: Beiläufig jede 4. bis 5. Purkinje'sche Zelle enthält Einschlüsse; diese klein, rund, einfach; die meisten Formen unter 1 μ, nur selten erreichen sie die Grösse von 2 μ.

Rinde: Sehr vereinzelte, punktförmige Körperchen. In keinem Antheil Gefässveränderungen.

Kaninchen 9. Passage.

Ammonshorn: Reichlich Negri'sche Körperchen; sie sind meist rund, 2 μ gross und lassen ein ringartiges Gebilde erkennen oder sind punktförmig; selten sind Formen zu 3 μ, die dann meist 2 bis 3 helle Punkte im Inneren erkennen lassen.

Kleinhirn: Fast in jeder Purkinje'schen Zelle einige Einschlüsse. sie sind in der Mehrzahl rund, einfach oder punktförmig, 2 μ gross. Es wurde keine Form über 3 μ beobachtet; äusserst selten eine complexe Form aus zwei ringartigen Innenantheilen bestehend. Die Anzahl der Einschlüsse im Vergleich zu der der Zellen im Ammonshorn auffallend grösser. Desgleichen die Zahl der Einschlüsse sowohl im Ammonshorn als im Kleinhirn bedeutend grösser als bei der 4. Passage.

Rinde: Sehr spärliche, ganz kleine Einschlüsse.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körperchen. Deutliche perivasculäre Infiltrate.

Kaninchen 19. Passage.

Gleicher histologischer Befund wie bei der 9. Kaninchenpassage, nur im Ammonshorn ist der Befund sehr spärlich.



Kaninchen 25. Passage.[1]

Ammonshorn: Sehr spärlicher Befund an Negri'schen Körperchen. Die Formen sind fast ausnahmslos einfach oder punktförmig, erreichen kaum 2 μ Grösse, nur sehr selten eine Form bis 4 μ, die lichte Punkte im Inneren zeigt.

Kleinhirn: Bedeutend grössere Anzahl von Einschlüssen als im Ammonshorn. Häufig 5 bis 6 Formen in einer Purkinje'schen Zelle. Zahlreiche Körperchen erreichen die Länge von 3 μ, auch ovale bis zu 4 μ Länge. Die Zahl der complex gebauten Formen ziemlich gross.

Verlängertes Mark: Negativer Befund.

Rückenmark (Hals- und Brusttheil): Die Ganglienzellen meist verändert. Keine Negri'schen Körperchen.

In keinem Antheil Gefässveränderungen.

Meerschweinchen von der 24. Kaninchenpassage.

Am 30· I. wird von der 24. Kaninchenpassage ein Meerschweinchen inficirt.

5. II. Rasende Wuth; das Thier läuft unaufhörlich im Käfig umher, um bei Berührung bis zur Decke empor zu schnellen.

6. II. Vormittags Paralysen. Exitus.

Incubationszeit 6 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 1 Tag. Gesammtdauer 7 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Aeusserst spärliche Negri'sche Körperchen; in 12 Präparaten konnte ich nur zwei Einschlüsse finden, welche kaum die Grösse von 1 μ erreichten. (Jedenfalls im Ammonshorn bedeutend geringere Anzahl als im Ammonshorn der 25. Kaninchenpassage.)

Kleinhirn: Sehr zahlreiche Negri'sche Körperchen in den Purkinje'schen Zellen. Hier und da ovale Formen von 2 μ Länge, die im Inneren 2 bis 3 helle Punkte erkennen lassen, in überwiegender Anzahl jedoch kleine, runde, einfach gebaute bis punktförmige an der Grenze der Wahrnehmbarkeit stehende, also Formen von der Grösse 1 μ und darunter.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körper, keine Gefässveränderungen.

Rückenmark: Keine Negri'schen Körper, keine Gefässveränderungen.

Ratte von der 24. Kaninchenpassage.

Von der 24. Kaninchenpassage wird am 20. II. eine weisse Ratte inficirt. (Die mit der gleichen Passage geimpften Kaninchen wiesen wieder typische rasende Wuth auf.)

28. II. Deutliches Unwohlsein. Zittern des Körpers.

1. III. Paralysen.

2. III. Exitus, ohne dass ein Excitationsstadium aufgetreten wäre.

Incubationszeit $7^1/_2$ Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen $2^1/_2$ Tage. Gesammtdauer 10 Tage.

[1] Der Verlauf wurde nicht weiter angegeben, da das klinische Bild dem Eingangs gegebenen vollständig entsprach. Incubation 7 bis 8 Tage. Dauer der manifesten Erscheinung 2 bis 3 Tage.



Histologischer Befund:

Ammonshorn: Einschlüsse sehr spärlich. In zwölf Präparaten nur drei Körperchen von homogenem Bau unter 1 μ Grösse.

Kleinhirn: Reichlich Negri'sche Körper in den Purkinje'schen Zellen. Höchst selten erreichen die Formen die Grösse von 2 μ und enthalten dann zwei helle Pünktchen, die meisten Formen homogen von 1 μ Grösse und darunter. Die Kernmembran erscheint häufig durch die Einschlüsse eingebuchtet.

Rinde: Keine Negri'schen Körperchen.

Verlängertes Mark und Rückenmark: Keine Negri'schen Körperchen. Andeutung von Gefässveränderungen.

Hund von der 24. und 25. Kaninchenpassage.

Am 30. I. wird mit einer grossen Menge Oblongata-Emulsion der 24. Kaninchenpassage ein Hund inficirt.

Am 5. II. wird der Hund todt aufgefunden. Der Zustand des Käfigs, in dem alles in Unordnung gebracht und zerbissen war, lässt auf rasende Wuth schliessen.

Der Sectionsbefund ergab Hyperämie der Meningen und der Rinde; sonst nichts Auffallendes.

Da der klinische Verlauf nicht beobachtet werden konnte und die biologische Probe nicht angestellt wurde, mag der Fall nur als Controle dienen und bemerkt werden, dass im Ammonshorn und Kleinhirn keine Negri'schen Körper gefunden wurden.

Es wurde also von der 25. Kaninchenpassage, deren histologischer Befund vorliegt, mit grosser Gehirnmenge am 7. II. abermals ein Hund inficirt.

10. II. Der Hund ist gesund. 12. II. Status idem.

13. II. Der Hund heult laut, das Heu des Käfigs ist zerwühlt, die Nase blutig gestossen; die Augen trüb. Nachmittags bereits deutliche Lähmungen.

14. II. Morgens wird der Hund todt aufgefunden. Incubationszeit $5^1/_2$ Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen $1^1/_2$ Tage. Gesammtdauer 7 Tage.

Die biologische Probe fiel positiv aus. Der sehr rapide Krankheitsverlauf lässt es wohl als Gewissheit erscheinen, dass wir es bei dem Hunde von der 24. Passage gleichfalls mit einer so rapid verlaufenden Wuth zu thun hatten.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Keine Negri'schen Körperchen.

Kleinhirn: Keine Negri'schen Körperchen. (Der Befund wurde an einer grossen Reihe tadellos gefärbter Präparate erhoben.)

Rinde: Negativer Befund.

Verlängertes Mark: Keine Einschlüsse. Geringgradige, jedoch deutliche Infiltration um die Gefässe.

Rückenmark: Es wurde sowohl Hals-, als auch Brust- und Lendenmark untersucht. Es finden sich Veränderungen der Ganglienzellen, sowie zahlreiche Blutungen; jedoch keine Negri'schen Körperchen. Keine Gefässveränderungen.



Spinalganglien (Halsmark): Keine Negri'schen Körper; keine zellige Infiltration; sehr viele Zellen weisen ausgesprochenen Etat spiremateux auf.

Virus „Hruda".

Das Virus stammt von einem 12jährigen Mädchen aus Ungerndorf in Mähren. Sie wurde am 4. XI. 1901 in den Zeigefinger der linken Hand gebissen und starb am 8. VII. 1903. Die ersten zwei geimpften Kaninchen gingen am 28. VII. an Lyssa ein; von der 2. Passage eines am 17. VIII., eines am 18. VIII. Jetzt nach 40 Passagen ist die Incubationszeit constant 6 bis 7 Tage. Die Form der Wuth ist eine exquisit paralytische.

Kaninchen 40. Passage.

Incubationszeit 6 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 3 Tage. Gesammtdauer 9 Tage.

Ammonshorn:
Kleinhirn:
Verlängertes Mark: } Keine Negri'schen Körperchen. Keine Gefässveränderungen.

Kaninchen 45. Passage.

Incubationszeit 6 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen $3^1/_2$ Tage. Gesammtdauer $9^1/_2$ Tage; paralytische Wuth.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Die Präparate weisen vollkommen gelungene Färbung auf. Es finden sich keine Negri'schen Körper, auch nicht die feinsten rothen Punkte.

Kleinhirn: In einigen Purkinje'schen Zellen finden sich Körnchen kleinster Dimensionen. Dass sie die rothe Farbe angenommen hätten, lässt sich vermöge ihrer besonderen Kleinheit nicht sicher sagen. Sie unterscheiden sich jedoch von den anderen Granulis, wie insbesondere bei Anwendung einer Blende deutlich sichtbar, durch ihr stärkeres Lichtbrechungsvermögen. Gut ausgebildete Negrikörper finden sich in den Präparaten nicht.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körper; keine perivasculäre Infiltration.

Rückenmark (Hals- und Lendenmark): Hier die bereits wiederholt angedeutete Veränderung der Ganglienzellen, besonders schön ausgebildet; ihr Aussehen, wie es sich mit Hülfe der Mann'schen Methode darstellt, möge hier kurz gegeben sein. Das Protoplasma, violett oder mehr röthlich gefärbt, lässt in seinem Inneren meist nur nur feine Granulirung, selten grössere Schollen erkennen. Im Protoplasma finden sich Vacuolen, die mitunter gross, unregelmässig bis rundlich geformt, einen ansehnlichen Theil der Zelle in sich begreifen, mitunter aber klein, rund, regelmässig der Zelle ein fast siebartiges Aussehen geben. Der Rand der Zellen erscheint häufig unregelmässig, eingebuchtet, zerfetzt. Die Kernmembran hebt sich scharf in Form einer meist vielfach gebuchteten blauen Linie hervor. Der Kern an Substanz äusserst arm, sein Inneres kaum gefärbt; umso deutlicher hebt sich auf diesem hellen Hintergrund das Chromatin ab. Während das Chromatin in der gesunden Zelle in Form eines bis zwei oder drei Hauptnucleolen und einer meist geringen Anzahl kleiner punktförmiger Gebilde



angeordnet ist, die alle nach Mann satte rothe Farbe annehmen, sehen wir hier das Chromatin nur blass gefärbt und in einer Unzahl verschieden grosser Kügelchen angeordnet.

Es finden sich weder Negri'sche Körper, noch Gefässinfiltrationen.

Hund von der 45. Kaninchenpassage.

Der Hund wird am 4. I. inficirt.

11. I. Deutliches Unwohlsein.

12. I. Lähmungen.

13. I. Exitus, ohne vorhergegangenes Excitationsstadium.

Incubationszeit 7 Tage. Krankheitsdauer 2 Tage. Gesammtdauer 9 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Keine Einschlüsse, keine Gefässveränderungen.

Kleinhirn: In den Purkinje'schen Zellen ist der Befund an Negri'schen Körpern positiv, und zwar finden sich Körperchen, welche die Grösse von 1 bis $1^1/_2\,\mu$ erreichen, allerdings nie überragen; sie sind selten, auf ca. 50 Zellen kommt nur ein Körperchen; sie sind rund, homogen gebaut oder entsprechen einem einfachen ringartigen Gebilde. Ausserdem finden sich in ziemlich grosser Anzahl punktförmige Gebilde, wie beim Kaninchen 45. Passage beschrieben, vielleicht nur um ein geringes grösser. Der Vergleich mit den ausgebildeten Negri'schen Körperchen desselben Präparates, die vollständige Uebereinstimmung in Farbe und Lichtbrechung lassen hier wohl keinen Zweifel aufkommen, dass wir es bei diesen feinsten Pünktchen mit Gebilden zu thun haben, welche den Negri'schen Körperchen zugezählt werden müssen.

Rinde: Keine Negri'schen Körperchen. Um manche Gefässe beginnende Infiltration.

Verlängertes Mark: Keine Einschlüsse; keine Gefässveränderungen.

Rückenmark (Hals- und Lendenanschwellung, Brustmark): Keine Negri'schen Körperchen, keine Gefässveränderungen. Die Ganglienzellen stark verändert, in ähnlicher Weise wie beim Kaninchen 45. Passage genau beschrieben.

Spinalganglien (Hals- und Brustmark): Keine Einschlüsse. An vielen Zellen ein schöner Etat spirémateux.

3. Virus fixe.

Als Virus diente das Virus fixe der Anstalt, dass bereits mehr als 700 Mal passirt ist. Es stammt aus dem Institut Pasteur und zwar wurde die 377. Passage übernommen. Die Incubationszeit beträgt 6 bis 7 Tage. Die Form der Wuth ist bei Kaninchen wie bei Hunden eine paralytische.

Kaninchen 713. Passage.

Incubationszeit 7 Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 6 Tage. Gesammtdauer 13 Tage. Paralytische Wuth.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: } Keine Negri'schen Körper; keine Gefässverände-
Kleinhirn: } rungen.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körperchen; keine Infiltrate.

Rückenmark (Hals und Lende): Die Ganglienzellen stark verändert. Keine Negri'schen Körperchen, keine Gefässveränderungen.



Kaninchen 755. Passage.

Incubationszeit $6^1/_2$ Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen $2^1/_2$ Tage. Gesammtdauer 9 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Die Zellen von normalem Aussehen. An den Blutgefässen keine Veränderung. Keine Negri'schen Körperchen.

Kleinhirn: Keine Negri'schen Körperchen; keine Gefässveränderungen.

Verlängertes Mark: } Keine Negri'schen Körper; keine
Rückenmark (Hals und Lende): } Gefässveränderung.

Hund von der 756. Passage.

Von der 756. Kaninchenpassage wird am 1. II. ein Hund inficirt.

8. II. Paralysen, ohne vorhergegangenen Excitationszustand.

10. II. Exitus.

Incubationszeit $6^1/_2$ Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen $2^1/_2$ Tage. Gesammtdauer 9 Tage.

Histologischer Befund:

Ammonshorn: Keine Negri'schen Körperchen, keine Gefässveränderungen.

Kleinhirn: Die Kerne der Purkinje'schen Zellen häufig pyknotisch, keine Einschlüsse.

Rinde: Infiltration um die Gefässe. Keine Einschlüsse.

Verlängertes Mark: Keine Negri'schen Körperchen, keine Infiltrationen.

Rückenmark (Brust, Hals und Lende): Stellenweise Blutungen; perivasculäre Infiltration; keine Negri'schen Körperchen.

Spinalganglien (Hals): Keine Einschlüsse.

Hund von der 757. Kaninchenpassage.

Am 10. II. wird behufs Controle von der 757. Kaninchenpassage ein Hund inficirt.

18. II. Zittern, Unwohlsein.

19. II. Paralysen, ohne vorhergegangenes Excitationsstadium.

20. II. Exitus.

Incubationszeit $7^1/_2$ Tage. Dauer der manifesten Erscheinungen 2 Tage. Gesammtdauer $9^1/_2$ Tage.

Der histologische Befund stimmt mit dem beim Hund von der 756. Kaninchenpassage vollkommen insofern überein, als sich weder im Ammonshorn noch Kleinhirn, verlängertem oder Rückenmark Negri'sche Körperchen finden. Die Gefässinfiltration nicht so deutlich ausgesprochen wie im vorhergehenden Fall.

Es gelangten ferner noch Ammonshorn und Kleinhirn zweier Hunde zur Untersuchung, die mit der 753. Kaninchenpassage inficirt wurden und nach typischer Incubationszeit und mit typischem Krankheitsverlauf eingegangen waren. Die Versuche könnten vielleicht nicht als rein gelten, da allerdings, wie es aus dem Krankheitsverlauf hervorgeht, ohne jeden Effect, einige präventive subcutane Injectionen mit Strassenvirus gemacht wurden. Es fanden sich in den bezeichneten Gehirngegenden keine Negri'schen Körperchen. Der auch hier negative Befund mag wohl für die eben angeführten Thiere als Controle eine gewisse Bedeutung haben.



Uebersichtstabelle.

Art des Virus	Name	Klinisches Bild	Thierart	Incubationszeit in Tagen	Gesammtdauer in Tagen	Befund an Negri'schen Körperchen	
						Ammonshorn	Kleinhirn
Strassenwuth	Hund „R."	?	Hund	?	?	sehr reichlich	reichlich
„ (1. Passage)	„	Uebergangsform	Kaninchen	16	18 1/2	spärlich	„
„	Hund L.	?	Hund	?	?	sehr reichlich	? (nicht untersucht)
„ (1. Passage)	„	paralytische Wuth	Kaninchen	13	15 1/2	reichlich	reichlich
„	F. L.	—	Mensch	28	32	sehr reichlich	spärlich
„ (2. Passage)	„	Uebergangsform	Kaninchen	13	19	sehr spärlich	„
„ (2. Passage)	„	„	„	20	23	spärlich	„
Durchgangsvir. (4. Pass.)	Karwin	rasende Wuth	„	8	10	sehr spärlich	mässig reichlich
„ (9. Passage)	„	„	„	8	10	reichlich	sehr reichlich
„ (25. Passage)	„	„	„	8	10 1/2	sehr spärlich	reichlich
„ (25. Passage)	„	„	Meerschw.	6	7	„	sehr reichlich
„ (25. Passage)	„	paralytische Wuth	Ratte	7 1/2	10	„	„
„ (40.-45. Pass.)	Hruda	„	Kaninchen	6	9 (9 1/2)	0	fraglich
„ (45. Passage)	„	„	Hund	7	9	0	spärlich
Virus fixe (718. Passage)	Virus fixe	„	Kaninchen	7	13	0	0
„ (755. Passage)	„	„	„	6 1/2	9	0	0
„ (757. Passage)	„	„	Hund	6 1/2	9	0	0
„ (758. Passage)	„	„	„	7 1/2	9 1/2	0	0

Litteratur-Verzeichniss.

1. **Negri**, Beitrag zum Studium der Aetiologie der Tollwuth. *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLIII.

2. **Derselbe**, Zur Aetiologie der Tollwuth. *Ebenda.* 1903. Bd. XLIV.

3. **Luzzani**, Zur Diagnose der Tollwuth. *Ebenda.* 1905. Bd. IL.

4. **Abba** u. **Bormans**, Sur le Diagnostic histologique de la rage. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1905. T. XVIII. Nr. 1.

5. **Bertarelli** u. **Volpino**, Morphologische und biologische Beobachtungen über einen Fall von Wuthkrankheit beim Menschen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXV. Originale.

6. **Luzzani**, Nachweisung des specifischen Parasiten in einem Fall von Tollwuth beim Menschen. *Ebenda.* Bd. XXXVI. Originale.

7. **Maas**, Ein Fall von Lyssa humana. *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 3.

8. **Bertarelli**, Ueber Beziehungen zwischen Virulenzmodificationen des Wuthvirus und Veränderungen der Negri'schen Körperchen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI. Originale.

9. **Bertarelli** u. **Volpino**, Nachforschungen u. experimentelle Beobachtungen über die Wuthkrankheit. *Ebenda.* Bd. XXXV. Originale. — Experimentelle Untersuchungen über die Wuth. *Ebenda.* Bd. XXXVII. Originale.

10. **Volpino**, Sulla struttura dei corpi descritti da Negri nella rabbia. *Arch. per le sc. med.* 1904. T. XXVIII. — Sulla struttura dei corpuscoli contenuti nell' interno dei corpi di Negri. *Rev. Ig. e San. Publ.* 1905. Vol. XVI. — Nach *Bull. de l'Institut Pasteur.* 1905. Hft. 5.

11. **Maresch**, Ueber die feinere Structur der Negri'schen Körper. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1905. Nr. 25.

12. **Dopter**, Effets expérimentaux de la toxine dysenterique sur le systeme nerveux central. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie.* 1905. Nr. 9.

13. **Marzocchi**, Contributo alle questione della specificita dei corpi di Negri. Osservazioni sull' avvelenamento da stricnina e sull' infezione tetanica. *Arch. per le sc. med.* T. XXVIII. — Nach *Bull. de l'Institut Pasteur.* 1905. Nr. 5.

14. **Fischer**, *Fixirung, Färbung u. Bau des Protoplasmas.* Jena 1899. S 241 ff.

15. **Apolant** u. **Emden**, Ueber die Natur einiger Zelleinschlüsse in Carcinomen. *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLII.



16. Held, Structur der Nervenzellen. *Archiv für Anatomie und Physiologie.* Anatom. Theil. 1897.

17. Schmaus u. Albrecht, Ueber Karyorrhexis. Virchow's *Archiv.* 1895. Bd. CXXXVIII. Supplement.

18. Spalteholz, *Mikroskopie und Mikrochemie.* Leipzig 1904.

19. Schüder, Die Negri'schen Erreger der Tollwuth. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 39.

20. Remlinger, A quel moment le bulbe des lapins rabiques de passage devient il virulent? *Comptes rendus de la Soc. de Biologie.* T. LVIII. Nr. 17.

21. Högyes, *Lyssa.* Wien 1897. S. 65.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

Ein für Trypanosoma Brucei specifisches Serum und seine Einwirkung auf Trypanosoma gambiense.

Von

Stabsarzt Dr. **F. K. Kleine** und Oberarzt Dr. **B. Möllers**.

Nach der von R. Koch[1] entdeckten Immunisirungsmethode gegen Tsetse mittels Benutzung von Tsetseparasiten, welche durch geeignete Thierpassage abgeschwächt sind, lassen sich Rinder[2] und vielleicht auch Esel[3] vor dem letalen Ausgang einer nachfolgenden Infection mit vollvirulentem Material bewahren. Das Blut solcher Thiere weist nach einiger Zeit gewisse Schutzstoffe auf, die in der Regel so gering sind, dass man sie nur erkennt, sofern man dies Serum mit Parasiten gemischt zur Injection verwendet. Das Gemisch ist dann nicht infectiös. Um in derartigen Seren die specifischen Substanzen für weitere Untersuchungen verwenden zu können, muss man ihre Wirksamkeit zu erhöhen versuchen. Zu diesem Zwecke gingen wir in folgender Weise vor.

Uns standen zwei Esel zur Verfügung, die durch die Koch'sche Schutzimpfung eine relativ starke Immunität erlangt zu haben schienen. Die Einzelheiten der vorgenommenen Behandlung sind von Martini[4]

---

[1] R. Koch, Ein Versuch zur Immunisirung von Rindern gegen Tsetsekrankheit (Surra). *Beiblatt z. Deutschen Colonialblatt.* 1901.

[2] A. Schilling, Ueber die Tsetsekrankheit oder Nagana. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1904. Bd. XXI. — Bericht über Untersuchungen betreffs Viehkrankheiten im Schutzgebiet. Togo 1903/04. *Deutsches Colonialblatt.* 1905. Nr. 10.

[3] Siehe E. Martini, Untersuchungen über die Tsetsekrankheit zwecks Immunisirung von Hausthieren. *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. L.

[4] A. a. O. S. 83ff.



ausführlichst geschildert, so dass wir hierüber hinweg sehen. Diesen Eseln injicirten wir am 9. I. je 18 ccm defibrinirtes Meerschweinchenblut, das reichlich Trypanosomen enthielt, in die Halsvene. Die Folge war ein so starker, anhaltender Collaps, dass wir den Versuch, auf diese Art das Serum der Thiere hochzutreiben, von vornherein aufgeben mussten. Der Collaps war veranlasst durch die schnelle Auflösung des fremden Blutes und vielleicht auch durch eine Agglutination der Trypanosomen in den Gehirncapillaren. Wir trennten deshalb die Tsetseparasiten vom Blut in ähnlicher Weise, wie es Laveran und Mesnil[1] thaten. Als geeignete Versuchsthiere, bei denen die Parasiten in grosser Menge auftreten, benutzten wir sehr grosse weisse Ratten. Durch intraperitoneale Infection der Ratten mit 1 ccm reichlich Trypanosomen haltigem Rattenblut gelang es, nach 2, spätestens 3 Tagen einen Maximalgehalt von Parasiten im kreisenden Blute zu erreichen. Ihre Zahl entsprach gewöhnlich ungefähr derjenigen der rothen Blutkörperchen. Dann wurden die Ratten durch Öffnen einer Jugularvene entblutet. Nach dem Defibriniren fügten wir zu dem Blut etwa die gleiche Menge Serum, das von den beiden vorbehandelten Eseln stammte. Die rothen Blutkörperchen sanken nach ca. 15 Minuten zu Boden, während die Trypanosomen im Serum blieben. Vorsichtig in ein anderes Gefäss gegossen enthielt das Serum die Parasiten fast gänzlich ohne Beimischung von Blut in reichlicher Menge. Nach ca. 2 stündigem Stehen waren sie zu Haufen agglutinirt und gelangten bei der nachfolgenden intravenösen Injection leichter zur Auflösung Ob dieser Gedanke ganz richtig war, mag dahin gestellt bleiben. Jedenfalls wurden bei der Anwendung des darauf gegründeten Verfahrens die Zufälle nach den Injectionen erheblich milder. Im Ganzen bekamen die Esel vier Einspritzungen — jene erste mitgerechnet — in 14 tägigen Zwischenräumen. In der Regel benutzten wir dazu 30 ccm Serum, das die lebenden Parasiten aus vier grossen Ratten enthielt. Nach der zweiten Injection zeigte das Serum der beiden Thiere Eigenschaften, die hier näher beschrieben werden sollen. Nach den späteren Einspritzungen erschien die specifische Wirksamkeit nicht mehr erhöht, sondern im Gegentheil nicht unerheblich vermindert.

Es schützte in der Dosis von 0·5 ccm subcutan gegeben Mäuse vor der intraperitonealen Infection, die 24 Stunden hinterher mit 0·2 ccm einer Tsetseblutaufschwemmung (ein Parasit auf drei Gesichtsfelder, Oelimmersion) erfolgte. Die Controlen starben in 4 bis 5 Tagen. Vgl. Tabelle I und II.

[1] A. Laveran et F. Mesnil, Recherches morphologiques et expérimentales sur le Trypanosome du Nagana ou maladie de la Mouche Tsétsé. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902. T. XVI.



Tabelle I. Prüfung der Schutzwirkung des specifischen Eselserums gegen Tsetseparasiten.

Maus		Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
1	Parasiten specifisches Eselserum	T.-I. 0·5		0	0	0	0	0	0	0	0	nach 6 Monaten noch am Leben.
2	Parasiten specifisches Eselserum	T.-I. 0·5		0	0	0	0	0	0	0	0	nach 5 Monaten †, nicht an Tsetse.
3 Controle	Parasiten normales Eselserum	T.-I. 0·5		+	++	+++	†					
4 Controle	Parasiten normales Eselserum	T.-I. 0·5		+	++	+++	†					

Tabelle II. Prüfung der Schutzwirkung des specifischen Eselserums gegen Tsetseparasiten.

Maus		Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
1	specifisches Eselserum	0·5	T.-I.								0	nach 3 Monaten am Leben und frei von Parasiten.
2	specifisches Eselserum	0·5	T.-I.								0	
3	specifisches Eselserum	0·5	T.-I.								0	
4	specifisches Eselserum	0·5	T.-I.								0	
5	specifisches Eselserum		T.-I. 0·5								0	
6	specifisches Eselserum		T.-I. 0·5								0	
7 Controle	normales Eselserum	0·5	T.-I.			†						
8 Controle	normales Eselserum	0·5	T.-I.				†					
9 Controle	normales Eselserum	0·5	T.-I.					†				
10 Controle	normales Eselserum	0·5	T.-I.					†				

T.-I. = Trypanosomen-Infection, Parasiten = Trypanosomen im Blut und zwar: + wenig, ++ viel, +++ reichlich, 0 negativ. † = Tod. Serumgabe (subcutan) $^1/_2$ Stunde vor der Infection (intraperitoneal).

Geben wir das Serum in der gleichen Dosis (0·5 ccm) 24 Stunden nach der Infection, so wurde der tödtliche Ausgang mit Sicherheit nur dann unterdrückt, wenn wir die Einspritzungen wiederholten. Eine Heilung kranker Mäuse gelang bisweilen, sofern wir zur Infection nicht den Stamm unserer Mäusepassage verwendeten, sondern Parasiten, die mehrere Wochen im Meerschweinchen gewesen waren.

Tabelle III. Heilversuch.

Maus	Tag															
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	
1	T.-I.	0·5 S		0·5 S		0·5 S		0·5 S		0					0	Nach 3 Monaten am Leben und frei von Parasiten.
2	T.-I.	0·5 S		0·5 S		0·5 S		0·5 S		0					0	
3	T.-I.	0·5 S		0·5 S		0·5 S		0·5 S		0					0	
4	T.-I.		0·5 S		0·5 S		0·5 S			0					0	
5	T.-I.		0·5 S		0·5 S		0·5 S			0					0	
6	T.-I.		0·5 S		0·5 S		0·5 S			0					0	
7	T.-I.			0·5 S		0·5 S		0·5 S		0					0	
8	T.-I.			0·5 S		0·5 S		0·5 S		0					0	
9	T.-I.			0·5 S		0·5 S		0·5 S		0					0	
10	T.-I.				0·5 S	0·5 S	0·5 S			0					0	
11	T.-I.				0·5 S	1·0 S	†									
12	T.-I.				0·5 S	†										
13 Controle	T.-I.					†										
14 Controle	T.-I.					†										
15 Controle	T.-I.						†									

T.-I. = Infection mit Tsetseparasiten aus Meerschweinchen;
S = Specifisches Eselserum subcutan.

Sah man im Blut der erkrankten Mäuse Trypanosomen, deren Zahl bereits die von ein bis zwei im Gesichtsfeld (Oelimmersion) überstieg, dann war auch durch fortgesetzte Serumgaben eine Rettung ausgeschlossen. Die Parasiten vermehrten sich unbekümmert weiter oder verschwanden besten Falls auf einige Zeit, um den Tod noch nach Wochen herbeizuführen. Vgl. Tabelle IV.

Ausser Mäuse behandelten wir einen tsetsekranken Hund mit specifischem Eselserum und zwar vom 5. Tag nach der Injection an. Auf intraperitoneale Injection von 20 ccm verschwanden die Parasiten Anfangs jedes Mal aus dem peripheren Blut, kehrten jedoch nach immer kürzerer Frist zurück und reagirten später auf die Einspritzungen nicht mehr. Das Leben des Hundes wurde durch die Behandlung nur um etwa 10 Tage verlängert. Zwei Hunde, an denen wir die prophylaktische Wirkung des Serums erproben wollten, starben, bevor ein sicheres Resultat zu Tage lag.

Tabelle IV. Heilversuch.

Maus		Tag																											
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	...	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	...	30.	...	40.	41.
1	Parasiten	T.-I.	—	—	0	—	—	0	—	0	0	—	0		†	nicht an Tsetse													
	spec. Serum		0·5	0·5		0·5	0·5		0·5		0·5		0·5																
2	Parasiten	T.-I.	—	—	0	—	—	0	—	0	0	—	†	nicht an Tsetse															
	spec. Serum		0·5	0·5		0·5	0·5		0·5		0·5																		
3	Parasiten	T.-I.		+			+	++	+	0	0	—	0		0		+		0	+	+++	†	an Tsetse						
	spec. Serum			0·5	0·5	0·5	0·5	0·5	0·5		0·5		0·5				0·5		0·5										
4	Parasiten	T.-I.		+			0	0	0	0	0	—	0				+		+	++	+++	†	an Tsetse						
	spec. Serum			0·5	0·5	0·5	0·5	0·5	0·5		0·5		0·5				0·5		0·5										
5	Parasiten	T.-I.		+			0	+	0	0	0	—	0				+		0		0							++ †	
	spec. Serum			0·5	0·5	0·5	0·5	0·5	0·5		0·5		0·5				0·5		0·5		0·5			0·5		0·5			
6	Parasiten	T.-I.		+			0	0	0	0	0	—	0				0		0		0							++	+++ †
	spec. Serum			0·5	0·5	0·5	0·5	0·5	0·5		0·5		0·5				0·5		0·5		0·5			0·5		0·5			
Controle	Parasiten	T.-I.		+		++	+++	†																					
	Parasiten	T.-I.		+		++	+++	†																					

T.-I. = Infection mit Meerschweinchenblut-Aufschwemmung intraperitoneal. Serumgabe subcutan.

an Pneumonie. Die Versuche wurden nicht fortgesetzt, da wir nach unseren Laboratoriumserfahrungen eine praktische Verwerthbarkeit des Serums kaum für angängig hielten. Vielleicht kommt aber als Schutzmittel gegen die natürliche Infection mit Tsetse das Serum immuner Thiere doch in Betracht. Jedenfalls erscheint die eben erfolgte diesbezügliche Mittheilung von Diesing[1] sehr der Beachtung und weiterer Prüfung werth. Die Dauer des Schutzes müsste sich noch verlängern lassen, wenn man zur Impfung stets das Serum artgleicher Thiere verwendet, d. h. bei Rindern Rinderserum, bei Eseln Eselserum.

Als recht interessante Thatsache wollen wir hervorheben, dass das Serum nicht im Stande war, die Esel selbst, von denen es stammte, vor dem Tode an Tsetse zu schützen. Die Thiere, deren Ernährungszustand trotz gelegentlicher Gewichtszunahme immer zu wünschen übrig liess, magerten, obwohl die Behandlung bereits am 2. II. bezw. 17. III. eingestellt war, langsam mehr und mehr ab. Der Tod trat am 30. V. bezw. 24. VI. ein. Fieber bestand vom Beginn der intravenösen Injectionen bis zum Exitus nie, abgesehen von einem 1 tägigen Temperaturanstieg unmittelbar nach der Einspritzung. Mikroskopisch waren im circulirenden Blut Trypanosomen niemals nachzuweisen, dagegen immer durch intraperitoneales Verimpfen einer grösseren Blutmenge (20 ccm) auf Hunde.

Gegen die so erhaltenen Trypanosomen zeigte das specifische Eselserum das gleiche Verhalten wie gegen Tsetseparasiten anderer Herkunft; d. h. stets war im Thierversuch eine ausgesprochene Schutzwirkung zu bemerken. Die Krankheit der Esel bot durchaus das Bild einer Kachexie. Derlei kachektische Zustände sieht man bisweilen auch bei Menschen, die sehr lange an Malaria leiden. Anfälle treten dann nicht mehr auf und Parasiten findet man selten. Der Tod scheint eine Folge chronischer Intoxication, deren Herr zu werden die geschädigten Gewebe nicht mehr im Stande sind.

Zur Erklärung dafür, dass die Trypanosomen in den spezifisch wirkenden Säften eines relativ immunen Thieres am Leben bleiben, kann man eine Gewöhnung der Parasiten an die Antikörper annehmen, oder wie es Rössle[2], unseres Erachtens sehr treffend, ausdrückt, eine active Immunisirung der Protozoen. Werden die aktiv immunisirten Trypanosomen auf ein neues normales Wirthsthier verpflanzt, so verlieren ihre Nachkommen natürlich bei der fortschreitenden Theilung immer mehr die ererbte Immunität und es nimmt

[1] Diesing, Ein Immunisirungsversuch gegen die Tsetsekrankheit der Rinder in Kamerun. *Archiv für Schiffs- u. Tropenhygiene.* 1905. Bd. IX. Nr. 10.

[2] R. Rössle, Specifische Sera gegen Infusorien. *Archiv für Hygiene.* Bd. LIV.



nicht Wunder, dass das specifische Serum jetzt prompt auf die Nachkommen jener Trypanosomen wirkt, auf welche selbst es einen Einfluss nicht ausübte. Von diesem Gesichtspunkt aus erklären sich einfach die Verhältnisse, wie wir sie bei einer anderen Protozoenkrankheit, der Hundepiroplasmose, finden. Auch hier bleibt das Blut immuner Hunde infectiös[1], doch das Serum schützt empfängliche Thiere vor der Infection mit dem gleichen[2] Virus.

Nachdem wir uns genau über die Eigenschaften des specifischen Eselserums orientirt, nachdem wir uns durch immer wiederholte Versuche überzeugt hatten, dass es, prophylaktisch gegeben, stets Mäuse gegen die Infection mit hochvirulenten Tsetseparasiten (s. Tabelle I u. II) zu schützen vermochte, prüften wir seine Wirksamkeit auf Tr. gambiense. Diese Parasiten, die das Institut für Infectionskrankheiten der Liebenswürdigkeit des Hrn. Physicus Dr. Nocht verdankt, waren für Ratten und Mäuse fast avirulent. Nur gelegentlich erlag ein Thier der Infection. In der Regel verschwanden die Parasiten nach mehreren Tagen aus dem Blut und hinterliessen eine gewisse Immunität[3] ihres Wirthsthieres; denn nach erneuter Infection sah man Trypanosomen nicht wieder auftreten. Alle Experimente, die wir in grosser Zahl anstellten, zeigten übereinstimmend, dass bei einmaliger subcutaner Anwendung von $0 \cdot 5^{\text{ccm}}$ des für Tr. Brucei specifischen Eselserums die Entwickelung des Tr. gambiense in Mäusen nicht oder wenig behindert wird. Die Infection nahm einen Verlauf, wie er der Quantität der intrap. injicirten Parasitenmenge entsprach. Spritzten wir eine geringe Menge ein ($0 \cdot 2^{\text{ccm}}$, ein Parasit auf drei Gesichtsfelder), so wurden spärlich Parasiten nach 3 bis 4 Tagen im Blut sichtbar, verwendeten wir eine etwas grössere Dosis, so erschienen sie eher. Es besteht demnach ein erheblicher Unterschied in der Wirksamkeit des Serums auf Tr. Brucei und gambiense, ein Unterschied, der noch mehr in die Augen fällt, wenn wir bedenken, dass ersteres hochvirulent, letzteres fast avirulent ist.

Wiederholten wir die Seruminjectionen, so war, normalem Serum gegenüber, wie Tabelle V zeigt, ein entwickelungshemmender Einfluss nicht zu verkennen. Es müssen somit in dem für Tr. Brucei specifischen Serum Receptorengruppen vorhanden sein, die eine grosse Aehnlichkeit besitzen

[1] Vgl. besonders Nocard et Motas, Contribution à l'étude de la piroplasmose canine. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902.

[2] A. Theiler, Beitrag zur Frage der Immunität bei der Piroplasmosis des Hundes. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904. Bd. XXXVII.

[3] Vgl. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiases.* Paris 1904. — D. Naborro and E. D. W. Greig, On the Trypanosomiases (Human and Animal) in Uganda. *Royal Society. Reports of the Sleeping Sickness Commission.* Nr. V. London 1905.



oder theilweise identisch sind mit Gruppen, die wir durch Immunisirung mit Tr. gambiense erzeugen würden.

Tabelle V.
Schutzversuch gegen Tr. gambiense mit Serum, das für Tr. Brucei specifisch ist.

Maus		Tag							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	+	+	+
2	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	+	+	0
3	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	0	0	+
4	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	+	+	0
5	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	0	0	0
6	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	+	+	0
7	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	0	0	+
8	Parasiten specifisches Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	0	0	+
9	Parasiten normales Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	+	+	++	+
10	Parasiten normales Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	+	++	+++	+
11	Parasiten normales Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	+	+	0
12	Parasiten normales Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	++	++	+++
13	Parasiten normales Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	0·5	0	0	0	+
14	Parasiten normales Eselserum	0·5	T.-I.	0·5	+ 0·5	+	++	++	+++
15	Parasiten		T.-I.			0	+	+	0
16	Parasiten		T.-I.			+	++	+++	0

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, dass sich Unterschiede zwischen Tr. Brucei und gambiense (s. Anmerkung) durch ein für ersteres specifisches Serum feststellen lassen.

Anmerkung. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass es nicht Castellani war, der die ätiologische Bedeutung der Trypanosomen für die Schlafkrankheit entdeckte. Zu jener irrthümlichen Annahme gelangt man leicht bei dem



Studium der eigenen Arbeiten **Castellani's** (vgl. besonders „Die Aetiologie der Schlafkrankheit der Neger“, *Centralblatt für Bakteriologie*, 1904, Bd. XXXV, Nr. 1), während man aus anderen bezüglichen Veröffentlichungen eine ganz abweichende Meinung gewinnt. Im IV. Heft der Berichte über die Schlafkrankheit (Royal Society. *Reports of the Sleeping Sickness Commission*, London, Nov. 1903, Nr. IV) heisst es S. 5 wörtlich: Dr. **Castellani** had observed these haematozoa in the cerebro-spinal fluid of five cases of Sleeping Sickness, and in one of these he had also seen them in the blood. — At the time of the arrival of the Commission, he did not consider that this trypanosoma had any causal relationship to the disease, but thought that is was an accidental concomitant like Filaria perstans. When he reported his observation to Lieut.-Col. **Bruce**, the latter was much struck by the discovery, and urged Dr. **Castellani** to pursue this point during his few remaining days in Entebbe.

Für die Ursache der Schlafkrankheit hielt **Castellani** Anfangs einen von ihm beschriebenen Streptococcus (Etiology of Sleeping Sickness. *The British Med. Journ.*, March. 14. 1903). Die nebensächliche Bedeutung, die er den Trypanosomen beimass, erklärt sich vielleicht zum Theil daraus, dass schon **Dutton** (*The Journal of tropical medicine*, Dec. 1. 1902) und **Forde** (*Ebenda*, Sept. 1. 1902) derartige Parasiten bei einem — nicht schlafkranken — Menschen gefunden hatten. Am 16. März 1903 traf **Bruce** in Entebbe ein. Vom 5. April ist das Schreiben **Castellani's** datirt, welches der Royal Society die Trypanosomen als Ursache der Schlafkrankheit nennt, während die Daten (Royal Society. *Reports of the Sleeping Sickness Commission*, London, August 1903) der einzelnen Funde (bis zu **Bruce's** Ankunft) 12. XI. 02; 15. XII. 02; 22. XII. 02; 25. I. 03 und 27. II. bezw. 2. III. 03 lauten. Hiernach kann es einem Zweifel wohl kaum unterliegen, dass das **Hauptverdienst an der wichtigen Entdeckung D. Bruce zuzuschreiben ist**. Seit es sich übrigens herausgestellt hat, dass der von **Castellani** gesehene Parasit identisch ist mit dem älteren Trypanosoma gambiense Dutton, empfiehlt es sich, wie **Laveran** u. **Mesnil** (*Trypanosomes et Trypanosomiases*, Paris 1904) hervorheben, andere Bezeichnungen fallen zu lassen und nur diesen Namen beizubehalten.



[Aus dem Königl. Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

Die Immunisirung gegen Schweineseuche mit Hülfe von Bakterienextracten.

Ein Beitrag zur Aggressinfrage.[1]

Von

Dr. **Julius Citron.**

Die Versuche, gegen den Erreger der Schweineseuche zu immunisiren, reichen bis in das Jahr 1890 zurück. De Schweinitz[2] gelang es aus Schweineseucheculturen eine „Albumose" und ein „Ptomaïn" zu isoliren. Die Injection der „Albumose" schützte Meerschweinchen und auch Schweine gegen die folgende Infection mit Schweineseuchebakterien.

Smith[3] und Moore[4] berichten, dass ihnen die Immunisirung von Kaninchen und Meerschweinchen durch Vorbehandlung mit bei 58° erhitzten Bakterien gelungen sei.

Aehnliche Resultate erhielten Silberschmidt[5] und J. u. M. Lignières.[6]

Dagegen führten die sehr umfangreichen Immunisirungsversuche von Voges[7] mit subcutanen Injectionen abgetödteter Bakterien zu einem negativen Resultat, indem an der Injectionsstelle starke Infiltrate und Abscesse entstanden, an denen die Thiere zu Grunde gingen.

[1] Vgl. hierzu A. Wassermann und J. Citron, Zur Frage der Bildung von bakteriellen Angriffsstoffen im lebenden Organismus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 28 und J. Citron, Ueber die Immunisirung mit Exsudaten u. Bakterienextracten. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk.* Abth. I. Originale. 1905. Bd. XL. S. 153.

[2] *Annual report of the bureau of animal industry.* 1890/91. 1891/92. 1898/99.

[3] *Ebenda.* 1891/92.

[4] *U. S. Department of agricult. Bureau of anim. industry.* Bull. Nr. 6. 1894.

[5] Contribution à l'étude de la swine plague. *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1895.

[6] La vaccination contre les pasteurelloses. *Compt. rend. de l'Acad. des sciences.* T. CXXXIV. 1902. (20. Mai.)

[7] Voges, Kritische Studien und experimentelle Untersuchungen über die Bakt. der hämorrhag. Septicämie. *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXIII.



Die gleichen ungünstigen Resultate wie Voges hatten Bruck[1], sowie Beck und Koske.[2] Diese Autoren kommen in ihren Publicationen aus dem Jahre 1904 bezw. 1905 zu dem Schluss, dass Kaninchen für die Immunisirung gegen Schweineseuche völlig ungeeignet seien. „Durch Vorbehandlung mit abgetödteten Culturen, die unter die Haut gespritzt waren, entstanden ebenso wie nach Injection von lebenden Bacillen Abscesse, so dass die Thiere in verhältnissmässig kurzer Zeit an Erschöpfung oder an einer spontanen Infectionskrankheit zu Grunde gingen.

Auch intravenöse Injectionen von durch Hitze oder Chloroform abgetödteten Schweineseuchebakterien führten nicht zum Ziele. Die Thiere sterben häufig schon bald nach Einspritzung von verhältnissmässig kleinen Mengen der vorsichtig abgetödteten Culturen, es war also nicht einmal eine erhebliche Giftfestigkeit gewonnen worden, oder wenn die Kaninchen einen gewissen Grad von Giftfestigkeit erlangt hatten, erlagen sie oft schon den geringsten Mengen lebender Cultur, welche zur Steigerung der Immunität eingespritzt worden waren. Andere Thiere, denen ganz geringe Mengen abgetödteter Culturen in die Blutbahn gebracht worden waren, bekamen heftige Gelenkentzündungen, die zum Theil sogar zur Eiterung führten.“ (Beck und Koske.)

Gleich ungünstig lautet das Ergebniss der von Beck und Koske angestellten Meerschweinchenversuche. Auch hier glückte es nicht, durch subcutane Einspritzung von erhitzten Culturen, einfachen oder bei 56° erhitzten Filtraten einen erheblichen Grad von Giftfestigung zu erreichen. „Jedoch trat bei Meerschweinchen nach wiederholter Einspritzung geringer Mengen einer lebenden Cultur eine vorübergehende Immunität auf.“

Nach dem negativen Resultat der von Beck und Koske angestellten Versuche, durch intravenöse Injection abgetödteter Culturen Immunität bei Kaninchen zu erzeugen, fällt der von Joest[3] gegen Voges erhobene Einwand, dass bei dessen Versuchen deshalb keine active Immunität erzeugt wurde, weil bei der subcutanen Injection die Bakterien nicht oder nur zum kleinsten Theil resorbirt werden.

Prüfen wir den Werth der einander gegenüberstehenden Angaben kritisch, so verdienen die von Bruck und Beck und Koske angeführten Versuche das meiste Vertrauen, da die älteren Arbeiten in einer Zeit unternommen

[1] Bruck, Erperiment. Beiträge zur Immunität gegen Schweineseuche. *Diese Zeitschrift.* 1904. Bd. XLVII.

[2] Beck und Koske, Untersuchungen über Schweineseuche mit besonderer Berücksichtigung der Immunitätsfrage. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1905. Bd. XXII. Hft. 2.

[3] Joest, Immunität bei Schweineseuche und Schweinepest. Kolle-Wassermann's *Handbuch.* Bd. IV. 2.



wurden, in der das Wesen des Schweineseuchebacillus noch nicht so absolut fest stand und Verwechselungen mit den Schweinepestbakterien, aber wohl auch anderen Mikroorganismen nicht völlig ausgeschlossen waren.

Nimmt man aber selbst die von Smith und Moore, die höchstwahrscheinlich mit dem echten Bacterium der Schweineseuche gearbeitet haben, ausgeführten Immunisirungen als vollwerthige Thatsache an, so muss man doch selbst nach den eigenen Angaben dieser Forscher und Angesichts der negativen Resultate von Voges und besonders von Beck und Koske zu dem Schluss kommen, dass die Immunisirung der höchst empfänglichen Versuchsthiere auf diesem Wege ausserordentlich schwierig und unsicher ist, und dass die Impfverluste unverhältnissmässig gross sein müssen.

Die grossen Schwierigkeiten, die die Schweineseuche, die Hühnercholera und die anderen Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septicämien der Immunisirung bieten, finden ihre Erklärung in dem Umstande, dass diese Bakterien, wenn sie lebend und virulent in einen empfänglichen Organismus gelangen, sich unbeschränkt in ihm vermehren, ohne dass der Organismus in irgendwie erheblichem Maasse über Schutzstoffe verfügt. Die Vermehrung erfolgt so rapid, dass die kleinsten Bakterienmengen noch im Stande sind, Kaninchen und weisse Mäuse bei subcutaner Impfung zu tödten. Unter diesen Umständen kann von einer Dosirung der lebenden Bakterien kaum mehr gesprochen werden, denn jede Dosis muss als Dosis letalis gelten, und das sonst übliche Princip, bei der Immunisirung mit kleinen, untertödtlichen Dosen zu beginnen, wird hier zur technischen Unmöglichkeit. Die Immunisirung mit durch Hitze abgetödteten Bakterien aber hat den Nachtheil, dass einerseits bei der Abtödtung die in den Bakterien enthaltenen, die Antikörperbildung auslösenden Substanzen geschädigt, andererseits wiederum mancherlei Giftstoffe freigemacht bezw. gebildet werden, die ihrerseits den Organismus schädigen, ja den Tod herbeiführen können, bevor noch eine genügende Antikörperproduction stattgefunden hat.

Das Problem, das bei der Schweineseuchen-Immunisirung für höchstempfindliche Thiere gelöst werden will, lässt sich also so formuliren. Man muss eine Methode haben, die die in den lebenden Bakterien vorhandenen immunisirenden Substanzen in dosirbarer Form, möglichst frei von giftigen Beimengungen, anzuwenden gestattet.

Die lebenden Bakterien selbst sind, wie wir gesehen haben, hierzu ungeeignet, da sie nicht dosirbar sind. Das wirksame Princip in ihnen ist aber nicht unlösbar, denn sonst wäre jede Immunität ausgeschlossen, was, wie die Immunisirung von Pferden und Rindern nach dem Verfahren von Wassermann und Ostertag u. A. beweist, de facto nicht der Fall ist.



Es muss also versucht werden, die Bakterien auszulaugen bezw. die immunisirende Substanz in Lösung zu bringen. Die gelöste immunisirende Substanz ist, da sie frei von Bakterien ist und folglich die von der stetigen Bakterienvermehrung ausgehenden Erscheinungen ihr fehlen, genau dosirbar und darum gut verwendbar.

In welcher Weise die Lösung der immunisirenden Bakteriensubstanz bewerkstelligt wird, ist eine Frage von untergeordneter Bedeutung, da die Wirkung in allen wichtigen Punkten dieselbe bleibt, gleichviel ob die Auflösung der Bakterien im Thierleibe durch die Körperflüssigkeiten oder im Reagensglas durch thierische Exsudate, durch Blutserum oder durch destillirtes Wasser erfolgt. Gewisse geringe Unterschiede in quantitativer Hinsicht bestehen, und auch qualitativ sind die verschiedenen Bakterienextracte vielleicht nicht völlig identisch, indem das eine Lösungsmittel mehr als das andere ausser den specifisch immunisirenden Substanzen auch noch andere Bakteriensubstanzen zu lösen vermag. Sieht man von diesen kleinen Differenzen ab, so zeigt es sich, dass allen aus lebenden Schweineseuchebakterien gewonnenen Extracten drei Eigenschaften zukommen, die wir im Folgenden genau besprechen wollen:

1. Die Virulenzsteigerung (Aggressinwirkung), die von Bail für die im Thierkörper nach Infection entstehenden Exsudate und von Wassermann und Citron für die künstlich im Reagensglas erzeugten Extracte nachgewiesen wurde;

2. die active Immunisirung mit Bildung von Antikörpern im Serum, die zur

3. passiven Immunisirung Verwendung finden können.

I. Die Virulenzsteigerung (Aggressinwirkung).

Die virulenzsteigernde Wirkung von Bakterienextracten und thierischen Exsudaten ist von verschiedenen Autoren beobachtet und beschrieben worden. Hier müssen vor allem die Tuberculinversuche Rob. Koch's erwähnt werden. Aber auch sonst finden sich in der Litteratur hierher gehörige Beobachtungen, die freilich meist eine andere Deutung erfahren haben. So konnte ich selbst[1] bei Versuchen, die ich mit Trichophyton mikrosporon anstellte, eine ganz ausserordentlich starke Virulenzsteigerung feststellen, als ich einem Frosch diesen Pilz in den Lymphsack spritzte und dann nach einiger Zeit einer Maus Lymphe des inficirten Frosches mit den wenigen noch darin befindlichen Trichophytonfäden, die allein zur Auslösung der Reaction keineswegs genügt hätten, zusammen injicirte.

[1] Julius Citron, Ueber das Verhalten der Favus- und Trychophytonpilze im Organismus. *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. IL. S. 124.



Genauer studirt wurde diese Erscheinung der Infectionsbeförderung zuerst von Bail. Dieser Autor konnte feststellen, dass es sich hier um eine, wie es scheint, constante Erscheinung handelt.

Die Deutung, die Bail dieser Thatsache giebt, ist sehr interessant. Bail[1] geht von der Voraussetzung aus, dass die Bakterien, um sich im Thierkörper halten zu können, Stoffe „nach Art eines Toxins" erzeugen, mit welchen sie die Schutzkräfte des Organismus, speciell die Phagocyten fernhalten. Diese Stoffe nennt Bail nach dem Vorschlage Kruse's Aggressine. In den Bauchhöhlenexsudaten von mit Typhus und Cholera geimpften Meerschweinchen konnte Bail diese Aggressine zuerst nachweisen. „Wird ein solches Exsudat durch sorgfältiges Centrifugiren von allen Zellen und überdies von der grössten Mehrzahl der Bacillen, wenn nothwendig auch durch Sterilisation von allen lebenden Keimen befreit, so erhält man eine klare, gelbliche, meist etwas fadenziehende Flüssigkeit, welche zur Untersuchung geeignet ist."

Die Grundeigenschaft der Bail'schen Aggressine besteht darin, dass sie untertödtliche Dosen eines Bacteriums zu tödtlichen machen, ohne dass sie selbst erheblich toxisch sind.

Diese Eigenschaft der Aggressine wurde von Bail bei Typhus und Cholera, von Kikuchi[2] bei der Dysenterie, von Weil[3] bei der Hühnercholera, von Hoke[4] bei Pneumokokken und Staphylokokken, von Salus[5] bei den Colibacillen nachgewiesen.

Besonderes Interesse erwecken für unseren vorliegenden Gegenstand die Untersuchungen von Edm. Weil. Die Hühnercholera steht der Schweineseuche ja ausserordentlich nahe. Die Pathogenität der vollvirulenten Hühnercholera ist ebenso wie die der Schweineseuche eine unbegrenzt hohe für Mäuse und Kaninchen. Eine untertödtliche Dosis existirt für diese also nicht. Weit weniger empfindlich dagegen ist das Meerschweinchen bei der subcutanen Infection, während es gegen die intraperitoneale Infection wenig Resistenz besitzt.

Diese Eigenschaft der Meerschweinchen benutzt Weil, um die Wirkung des Hühnercholeraaggressins zu demonstriren. Was die Darstellung

[1] Bail, Untersuchungen über Typhus- u. Choleraimmunität. *Archiv f. Hygiene.* 1905. Bd. LII.

[2] Kikuchi, Untersuchungen über den Shiga-Kruse'schen Dysenteriebacillus. *Ebenda.* 1905. Bd. LII.

[3] Weil, Ueber Infection u. Immunität bei Hühnercholera. *Ebenda.* 1905. Bd. LII.

[4] Hoke, Agressive Wirkung von Diplokokkenexsudat. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1905. Nr. 14. — Ueber die aggressive und immunisatorische Wirkung von Staphylokokkenexsudat. *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. L.

[5] Salus, Das Agressin des Colibacterium. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1905. Nr. 25.



des Aggressins selbst betrifft, so verfährt Weil in folgender Weise. Er injicirt Kaninchen geringe Mengen — 1 Tropfen 24 stündiger Bouilloncultur in 5 ccm Bouillon — Hühnercholera intrapleural. Die Thiere starben in 5 bis 8 Stunden und zeigten in der Pleurahöhle ein starkes Exsudat. Dieses Exsudat wird steril entnommen, mit $^1/_2$ Procent Phenol versetzt, klar centrifugirt und dann 3 Stunden auf 44° erhitzt, „welche Temperatur jedoch unter keiner Bedingung überschritten werden darf, damit die Wirkung der Aggressine keinen Schaden nehme.“ Dann werden die Exsudate durch Anlegen von Agar- und Bouillonculturen, die 2×24 Stunden im Brütschrank bleiben, auf ihre Sterilität geprüft. Nur völlig sterile Exsudate dürfen für die Aggressinprüfung zur Verwendung gelangen. Genau in der gleichen Weise habe ich Schweineseuche-„Aggressine“ mir dargestellt und war in der Lage, die Angaben Bail's und Weil's, soweit sie die objectiven Befunde betreffen, zu bestätigen.

Folgender Versuch demonstrirt die Herstellung und den Nachweis des Schweineseuchen-Aggressins.

Ein Kaninchen erhält am 31. März 1905 eine intrapleurale Injection von 5 ccm Bouillon + 1 Tropfen 24 stünd. Schweineseuchebouilloncultur.

Am nächsten Morgen wird das Thier todt aufgefunden. Die Section ergiebt in der Brusthöhle ein Exsudat, das auf der Injectionsseite röthlichbraun (hämorrhagisch) ist, während auf der anderen Seite sich ein ziemlich klares, gelbes, seröses Exsudat vorfindet. Die Gesammtmenge beträgt etwa 15 ccm. Dieses Exsudat wird mit $^1/_2$ Procent Phenol versetzt, klar centrifugirt und 3 Stunden bei 44° erhitzt, dann auf seine Sterilität untersucht, indem Agar- und Bouillonculturen hiervon angelegt werden, die sich nach 48 stündigem Verweilen bei 37° als steril erwiesen. Hierauf wird folgender Versuch angestellt:

Versuch I.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Aggressin	Ausgang
1	Meerschw.	6. IV.	$^1/_{100}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	Bleibt am Leben.
2	„	„	desgl.	1·5 ccm subcutan	† am 3. Tag.
3	„	„	—	desgl.	Bleibt am Leben.

Versuch II.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Aggressin	Ausgang
1	Meerschw.	8. IV.	$^1/_{100}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	Bleibt am Leben.
2	„	„	desgl.	3·0 ccm subcutan	† am 2. Tag.
3	„	„	—	desgl.	Bleibt am Leben.



Aus diesen beiden Versuchen ergiebt sich zunächst, dass die Dosis von $^1/_{100}$ Oese Schweineseuche IV, die den 10. Theil der für Meerschweinchen bei subcutaner Impfung tödtlichen Dosis darstellt, zu einer acut tödtlichen werden kann, dadurch dass man dem Thiere gleichzeitig oder, wie es in diesen Versuchen geschehen ist, $^1/_4$ bis 1 Stunde vorher „Aggressin“ injicirt. Das Aggressin ist nur wenig toxisch, die injicirten Mengen werden von den Meerschweinchen sehr gut vertragen. Die Virulenzsteigerung ist direct proportional der Menge des Aggressins. Nimmt man grössere Mengen Aggressin, so erfolgt der Tod schneller. Nimmt man sehr geringe Mengen Cultur, so lässt sich auch da die Aggressinwirkung demonstriren, obwohl der Tod des Thieres nicht mehr eintritt.

Versuch III.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Aggressin	Ausgang
1	Meerschw.	4. IV.	$^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	Bleibt am Leben. Ist vollkommen munter. Es entwickelt sich ganz allmählich ein Infiltrat.
2	„	„	desgl.	2·0 Oese subcutan	5. IV. schwer krank. 6. IV. desgl. 7. IV. desgl. 8. IV. stark abgemagert u. krank. 10. IV. Thier beginnt sich zu erholen. Bleibt am Leben. Starkes Infiltrat.
3	„	„	—	desgl.	Bleibt am Leben.

Wie haben wir uns diese Wirkung vorzustellen?

Untersucht man die aggressinhaltigen Exsudate mikroskopisch, so zeigt sich, dass nur wenig Zellen darin sind, die Bakterien sich dagegen in enormer Zahl vorfinden. Es hat also in der kurzen Zeit seit der Infection eine enorme Bakterienvermehrung stattgefunden, wie sie auf unseren künstlichen Nährböden niemals zu erreichen ist. Diesem mächtigen Bakterienangriff, der von Minute zu Minute kraftvoller wird, vermag der Organismus auf die Dauer nicht Stand zu halten, er unterliegt schliesslich, nachdem alle seine Hülfskräfte verbraucht sind und deren Neubildung mit der Bakterienvermehrung nicht Schritt halten kann. Bei diesem Kampf mit dem Organismus fallen zahllose Bakterien der Vernichtung, der Auflösung anheim, und diese aufgelösten Bakterien finden sich in den frischen Exsudaten.

Unsere Auffassung ist also, dass es sich bei den „Aggressinen“ nicht um Substanzen handelt, die die Bakterien „gleich Toxinen“ absondern, um den thierischen Organismus zu schädigen, sondern dass sie vielmehr bakterielle Auflösungsproducte sind. Wenn dem so ist, dann muss es

gelingen, sie ausserhalb des Organismus herzustellen, so bald man die geeigneten Bedingungen schafft.

Diese Bedingungen sind:

1. Grosse Massen von Bakterien.
2. Auflösende Flüssigkeiten, die ungiftig sind.

Diese Bedingungen erfüllt man in der Art, dass man sich Massenculturen von Bakterien auf Kolle'schen Schalen herstellt. Eine Kolle'sche Schale entspricht 12 Agarculturen. Die Kolle'schen Schalen werden mit Cultur reichlich beschickt, um ein möglichst starkes Wachsthum zu erzielen und dann nach 24 Stunden abgeschwemmt. Zum Abschwemmen habe ich in einer Versuchsreihe normales Kaninchenserum, in einer anderen destillirtes Wasser benutzt. Die Serummenge, die man braucht, ist von der Wachsthumstärke der Culturen abhängig, in der Regel wurden 10 bis 12 ccm Serum pro Schale verwandt. Man erhält so eine trübe, milchige Aufschwemmung, die man nun, gut gegen Licht geschützt, bei Zimmertemperatur in einen Schüttelapparat bringt und dort 1 bis 2 bis 3 Tage schütteln lässt. Es ist dies ein Verfahren, wie es in ähnlicher Weise Brieger mit seinen Mitarbeitern Bassenge und Meyer zur Gewinnung eines activ immunisirenden Präparates mit Typhusbacillen zuerst anwendete. Hierauf carbolisirt man, centrifugirt und sterilisirt genau wie es mit den aggressinhaltigen Exsudaten geschieht. Die Prüfung dieses serösen Bakterienauszuges zeigt die gleiche virulenzsteigernde Eigenschaft.

Versuch IV.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Exsudat-Aggressin	Seröser Bakterien-Extract	Ausgang
1	Meerschw.	17. V.	$^1/_{50}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	—	Bleibt am Leben.
2	"	"	desgl.	1·5 ccm subcutan	—	† am 4. Tage.
3	"	"	—	desgl.	—	Bleibt am Leben.
4	"	"	$^1/_{50}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	2·5 ccm subcutan	† am 5. Tage.
5	"	"	—	—	desgl.	Bleibt am Leben.

Versuch V.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Seröser Bakt.-Extract	Ausgang
1	Meerschw.	29. V.	$^1/_{200}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	Bleibt am Leben.
2	"	"	desgl.	2·5 ccm subcutan	† nach 24 Std.
3	"	"	—	desgl.	Bleibt am Leben.



Die Virulenzsteigerung, die durch die serösen Bakterienextracte hervorgerufen wird, ist um so bemerkenswerther, als die Injection von normalem Kaninchenserum allein im Allgemeinen, wie bekannt, den entgegengesetzten Effect, nämlich eine Resistenzerhöhung hervorzubringen pflegt. Die Differenz in der quantitativen Wirkung des artificiellen Aggressins, die sich in den Versuchen IV und V zeigt, rührt von dem verschiedenen Wachsthum der Culturen her. In Versuch IV gelangten weniger Bacillen zur Abschwemmung als in Versuch V und dementsprechend war die Agressinwirkung schwächer. Verwendet man an Stelle des Serums destillirtes Wasser, so erhält man nach völlig gleicher Behandlung einen Bakterienextract, der wiederum die charakteristische Virulenzsteigerung zeigt.

Versuch VI.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Wässeriger Bakt.-Extract	Ausgang
1	Meerschw.	3. VI.	$^1/_{200}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	Bleibt am Leben.
2	„	„	desgl.	2·0 ccm subcutan	† nach 2 Tagen.
3	„	„	—	2·0 „ „	Bleibt am Leben.
4	„	„	—	3·0 „ „	Bleibt am Leben.

Versuch VII.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsmenge	Wässeriger Bakt.-Extract	Ausgang
1	Meerschw.	2. VI.	$^1/_{200}$ Oese Seuche	—	Bleibt am Leben.
2	„	„	desgl.	2·0 ccm subcutan	† nach 3 Tagen.
3	„	„	desgl.	3·0 „ „	† nach 3 Tagen.
4	„	„	—	3·0 „ „	Bleibt am Leben.
5	„	„	—	4·5 „ „	† in 24 Stunden.

Das Ergebniss dieser Versuche ist also, dass in den Schweineseuchebakterien sich eine Substanz befindet, welche in den Körperflüssigkeiten und im destillirten Wasser gut lösbar ist, und die die Eigenschaft hat, bei gleichzeitiger Injection mit den entsprechenden Bakterien eine Virulenzsteigerung zu bewirken. Diese Substanz selbst ist in kleinen Dosen nicht giftig.

Das Fehlen der Giftigkeit des Aggressins geht aus den obigen Versuchen mit genügender Deutlichkeit hervor, d. h. eine Lösung, die deutliche virulenzsteigende Eigenschaft besitzt, kann in den angewandten, ja selbst in wesentlich höheren Dosen noch frei von jeder Giftwirkung sein. Thatsächlich trifft diese Möglichkeit keineswegs immer zu, indem neben dem „Aggressin" auch noch andere Stoffe giftiger Natur in die



Lösung mit übergehen können. Die einzelnen Lösungsmittel zeigen hier nun Differenzen, ebenso wie die Verhältnisse bei den verschiedenen Bakterienarten nicht die gleichen sind.

Die natürlichen Aggressine der Schweineseuche, d. h. die durch intrapleurale bezw. intraperitoneale Bakterieninjection erhaltenen und dann sterilisirten und von den Bakterienleibern befreiten Exsudate sind bei subcutaner Application für Kaninchen und Meerschweinchen in verhältnissmässig grossen Dosen nahezu ungiftig, während ich bei intravenöser und intraperitonealer Injection einige Thiere verloren habe. Und in diesen Fällen möchte ich einen Theil der Schuld auf den Carbolgehalt der Lösungen schieben. Die Virulenzsteigerung liess sich in allen untersuchten Fällen nachweisen, wenn auch nicht stets in gleicher Stärke. Die artificiellen Aggressine zeigen unter einander bemerkenswerthe Unterschiede.

Die serösen Bakterienextracte der Schweineseuche zeigen die Virulenzsteigerung sehr regelmässig, ich habe sie in fünf Versuchen ausnahmslos gefunden. Ihre Giftigkeit kann sehr gering sein, gelegentlich habe ich jedoch auch stärkere Toxicität finden können.

Versuch VIII.

1. Kaninchen. 30. V. 05. 5 ccm serösen Schweineseucheextracts subcutan.
3. VI. 05. †.
Im Blute keine Bakterien nachweisbar.

2. Kaninchen. 6. VI. 05. 2·2 ccm serösen Schweineseucheextr. intravenös.
10. VI. 05. †.
Im Blute keine Bakterien nachweisbar.

3. Kaninchen. 16. VI. 05. 2·0 ccm serösen Schweineseucheextr. subcutan.
28. VI. 05. †.
Im Blute keine Bakterien nachweisbar.

4. Kaninchen. 16. VI. 05. 2·0 ccm serösen Schweineseucheextr. subcutan.
24. VI. 05. †.
Im Blute keine Bakterien nachweisbar.

In allen Fällen ist die Blutuntersuchung nothwendig, weil unter dem Einfluss der virulenzsteigernden Substanz selbst ganz vereinzelte Bacillen, die durch das Erwärmen auf 44° und Carbolisiren so stark abgeschwächt sind, dass die Agar- und Bouillon-Testculturen steril bleiben, im Thierkörper sich noch vermehren und den Tod durch Septicämie herbeiführen können.

Die wässerigen Extracte der Schweineseuche zeigen die Aggressinwirkung inconstanter und sind relativ häufig giftig.

Versuch IX.

1. Meerschw. 16. VI. 05. 1·0 ccm wässerigen Schweineseucheextr. subcut.
28. VI. 05. †.
Keine Bakterien nachweisbar.



2. Meerschw. 16. VI. 05. 2·5 ccm wässerigen Schweineseucheextr. subcut.
1. VII. 05. †.
Keine Bakterien nachweisbar.

Dies gilt, wie ich ausdrücklich betonen will, nur von der Schweineseuche. Die Schweinepest z. B. verhält sich ganz anders, hier habe ich in jedem wässerigen Bakterienauszug ausserordentlich starke Aggressivität bei geringer Giftigkeit nachweisen können.

II. Active Immunisirung.

Versuche an Stelle der lebenden, abgeschwächten oder abgetödteten Bakterien zum Zwecke der Immunisirung bakterielle Extracte und Autolysate zu setzen, sind vielfach gemacht worden; die Erfolge waren je nach der Bakterienart wechselnd. Der Gedankengang der meisten Autoren war der, auf diesem Wege ein Bakterientoxin darzustellen, gegen das man die Thiere immunisiren wollte. So hat schon 1899 Maragliano[1] m Anschluss an Rob. Koch (1897) einen Wasserextract der Tuberkelbacillen („Tubercolina aquosa") dargestellt, der im Wesentlichen dieselben Eigenschaften wie das Koch'sche Tuberculin entfaltet. Gegen dieses wässerige Tuberculin lässt sich leicht immunisiren. Das Serum immunisirter Thiere hebt die Tuberculin-Wirkung auf. Ferner haben Neisser und Shiga[2] in den Autolysaten von Culturen immunisirende „freie Receptoren" nachgewiesen. Wassermann[3] hat mittels destillirten Wassers bei 37° aus bei 60° abgetödteten Typhusbacillen Auszüge zum Zwecke der Immunisirung hergestellt und Brieger, Bassenge und Meyer[4] haben lebende Typhusbacillen mit destillirtem Wasser bei 15° geschüttelt.

Mit der Citirung dieser wenigen Beispiele sind keineswegs alle Versuche in dieser Richtung erschöpft, es sind vielmehr noch mancherlei ähnliche Experimente gemacht worden, deren Aufzählung sich hier jedoch erübrigt.

---

[1] Maragliano, Der wässerige Auszug der Tuberkelbacillen u. seine Derivate. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 18.

[2] Neisser u. Shiga, Ueber freie Receptoren von Typhus- u. Dysenteriebacillen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 4.

[3] Wassermann, Beiträge zur Frage der activen Immunisirung bei Menschen. *Festschrift* für R. Koch. 1903.

[4] M. Meyer, Weitere Versuche z. Darstellung specif. Substanzen aus Bakterien. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 2.

L. Brieger u. M. Meyer, Zur Gewinnung specifischer Substanzen aus Typhusbacillen. *Ebenda.* 1904. Nr. 27.

R. Bassenge u. M. Meyer, Zur Schutzimpfung gegen Typhus. *Ebenda.* 1905. Nr. 18.



Bail[1] und seine Mitarbeiter haben auf Grund ihrer Anschauung, dass „die Aggressivität die unerlässliche Vorbedingung ist, damit ein Bacillus überhaupt eine Krankheit durch seine Vermehrung im Körper eines normalen Thieres hervorrufe“, gefolgert, „dass Krankheitsentstehung unmöglich wird, sobald die Agressivität der Bacillen nicht mehr zur Geltung gelangen kann. . . . Da man nun die Unmöglichkeit einer Krankheitsentstehung durch bestimmte Bacillen Immunität nennt, so wird ihre Ursache in der versagenden Aggressivität der betreffenden Bacillen gelegen sein. . . . Die Bacillen selbst sind dabei in gewissem Grade nebensächlich; denn in dem Augenblicke, wo sie im Thiere gar nicht mehr agressiv wirken können, sind sie für dasselbe zu blossen Saprophyten geworden, mit denen der Körper leicht fertig wird.“

Dem zu Folge ist nach Bail[2] die baktericide Immunität keine echte Immunität. Denn sie entsteht durch Injection todter Bacillen oder so geringer Mengen lebender Bakterien, dass keine specifische Krankheit erfolgt, d. h. dass von den Bakterien im Körper kein Aggressin producirt wird.

„Wenn dieser Immunität ein antiaggressiver Bestandtheil fehlt, jener Bestandtheil, der erst die Unmöglichkeit der Krankheitsentstehung bedingt, so kann es sich wirklich nur um eine scheinbare Immunität, die gegen die Krankheitserreger, aber nicht gegen die Krankheit selbst handeln.“

Wie man aus diesen Sätzen sieht, legt Bail den Hauptwerth auf den Unterschied zwischen der Immunität gegen die Krankheitserreger (baktericide Immunität) und der gegen die Krankheit. Eine Immunisirung gegen die Krankheit ist nur möglich, wenn in den zu immunisirenden Thierkörper Agressin hineingelangt. Dies kann geschehen, indem man entweder die Pasteur'sche Methode der Schutzimpfung mittels Vaccins anwendet, d. h. Bakterien, deren Aggressivität abgeschwächt, aber nicht vernichtet ist, oder indem man direct Aggressin injicirt. Die Pasteur'sche Methode führt dann zum positiven Erfolge, wenn gerade so viel Agressin producirt wird, dass einerseits das Thier nicht stirbt, andererseits genügend Aggressin zur Production von Antiaggressin vorhanden ist.

Die Anwendung dieser Methode ist überaus schwierig und unsicher.

Zuverlässig und einfach dagegen ist es, dem Thiere direct Aggressin zuzuführen. Auf diese Weise gelingt es leicht, echte Immunität zu erzeugen. Diese Anschauungen sind von besonderer Bedeutung bei der Frage der Immunisirung gegen Schweineseuche. Wir haben gesehen,

[1] A. a. O. S. 371.

[2] A. a. O. S. 371—373.



wie ausserordentlich schwierig, ja meist direct unmöglich es ist, gegen diesen Mikroorganismus mit Hülfe von todten oder lebenden Bakterien bezw. Vaccins zu immunisiren. Andererseits haben wir die Aggressine im vorigen Theile kennen gelernt und gesehen, dass sie von den Thieren relativ gut vertragen werden. Die Schweineseuche scheint darum ebenso wie die Hühnercholera (Weil) ein ganz hervorragend gutes Object zur Prüfung zu sein, ob eine Aggressinimmunität möglich ist.

Versuch X.

1. Kaninchen.

4. IV.	1. Injection: 2·0 ccm natürliches Schweineseuche-Aggressin subcutan.
13. IV.	2. „ : 1·0 „ „ „ „
25. IV.	3. „ : 1·0 „ „ „ „
2. V.	4. „ : 2·0 „ „ „ „
11. V.	Serumentnahme aus der Ohrvene.
12. V.	1. Infection: $^1/_{5000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
15. V.	Thier ist vollkommen gesund und munter. Ganz kleines locales Infiltrat an der Infectionsstelle.
13. VII.	2. Infection: $^1/_{100}$ Oese Schweineseuche IV intravenös.
15. VII.	Thier ist vollkommen gesund und munter.
15. IX.	„ „ „ „ „

2. Kaninchen. (Controle zu Nr. 1.)

12. V.	Infection: $^1/_{10000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
14. V.	†.

3. Kaninchen.

6. IV.	1. Injection: 1·0 ccm natürl. Schweineseuche-Aggressin intraper.
17. IV.	2. „ : 1·0 „ „ „ „ „
25. IV.	3. „ : 1·0 „ „ „ „ „
1. V.	4. „ : 2·0 „ „ „ „ subcut.
12. V.	5. „ : 2·0 „ „ „ „ „
16. VI.	1. Infection: $^1/_{100}$ Oese Schweineseuche IV intravenös.
17. VI.	Ganz munter.
8. VII.	2. Infection: 1 Oese Schweineseuche IV intravenös.
15. VII.	Ganz munter.
22. IX.	3. Infection: 1 Oese Schweineseuche IV intravenös.
3. X.	Ganz munter.

4. Kaninchen. (Controle zu Nr. 3.)

16. VI.	Infection: $^1/_{100000}$ Oese Schweineseuche IV intravenös.
17. VI.	Morgens todt aufgefunden.

5. Kaninchen.

7. VI.	1. Injection: 2·5 ccm Schweineseuche-Aggressin subcutan.
16. VI.	2. „ : 2·0 „ „ „ „
1. VII.	Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
15. VII.	Ganz munter.

6. Kaninchen. (Controle zu Nr. 5.)

1. VII.	Infection: $^1/_{10000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
2. VII.	†.



Die angeführten Versuche zeigen uns deutlich, dass es auf diesem Wege leicht gelingt, so ausserordentlich hohe Grade von Immunität zu erlangen, dass Kaninchen, die durch eine intravenöse Injection von $^1/_{100000}$ Oese in 24 Stunden und durch eine subcutane Infection von $^1/_{10000}$ Oese Schweineseuche IV ausnahmslos, wenn auch nach verschieden langer Zeit, die von der Körpergrösse und der natürlichen Resistenz des Thieres abhängt, getödtet werden, die intravenöse Injection von einer ganzen Oese schliesslich vertragen. Bemerkenswerth ist, dass kein einziges immunisirtes Kaninchen der Infection erlegen ist. Wichtig ist es dabei, wie Bail hervorhebt, genügend lange Zeit nach der letzten Injection verstreichen zu lassen, bevor man zur Infection schreitet. Denn während der Immunisirung ist ein Zustand der Ueberempfindlichkeit vorhanden, der längere Zeit lang bestehen bleibt. Uebrigens bedarf es keineswegs einer langdauernden Immunisirung, um hohe Immunitätsgrade zu erreichen. Eine einzige Injection genügt hierzu.

Versuch XI.

1. Kaninchen.

8. IV.	4·0 ccm natürliches Schweineseuche-Aggressin subcutan.
10. IV.	Thier ist mager und fühlt sich matt.
13. IV.	Es erholt sich wieder.
25. IV.	Ganz munter.
26. IV.	1. Infection: $^1/_{10000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
16. VI.	2. " : $^1/_{10}$ " " " "
13. VII.	3. " " 1 " " " intravenös.
22. IX.	4. " " 1 " " " "
3. X.	Ganz munter.

2. Kaninchen, sehr grosses Thier. (Controle zu Nr. 1.)

26. IV.	Infection: $^1/_{10000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
5. V.	†.

3. Kaninchen. (Controle zu Nr. 1.)

16. VI.	Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
17. VI.	† aufgefunden.

4. Kaninchen. (Controle zu Nr. 1.)

22. IX.	Infection: $^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
23. IX.	†.

Während Kaninchen, wie wir gesehen haben, ausserordentlich empfindlich gegen die Injection von Schweineseuche sind, so dass selbst die kleinsten Mengen lebender Bacillen bei subcutaner Infection zum Tode des Thieres führen, sind Meerschweinchen weit resistenter. Bei subcutaner Injection des Stammes IV, den ich benutzt habe und der für Kaninchen und weisse Mäuse hochvirulent ist, bedarf es $^1/_{10}$ Oese Cultur, um in einigen Tagen ein Meerschweinchen sicher zu tödten. Kleinere

Dosen machen locale Infiltrate und Abscesse. Ueberhaupt ist dies eine charakteristische Eigenschaft der Schweineseuchebacillen, dass sie, wenn sie nicht zur Septicämie, d. h. zum sicheren Tod des Thieres führen, locale ausgebreitete Infiltrate machen.

Auch Immunisirung von Meerschweinchen gegen die Schweineseuche gelingt mit Hülfe der Injection von Aggressin sehr leicht und sicher, wie folgende Protokolle zeigen. Zu bemerken ist hierbei, dass ausschliesslich von Kaninchen stammende Aggressine zur Verwendung gelangten. Die meisten in den Versuch gelangten Meerschweine stammen aus den Experimenten, welche zum Nachweis der Virulenzsteigerung angelegt wurden, und sind zum Theil schon einmal als Controlen in den Versuchen I bis IV erwähnt worden.

Versuch XII.

1. Meerschweinchen.
   - 3. IV. 1. Injection: 1·5 ccm natürl. Schweineseuche-Aggressin subcut.
   - 4. IV. Etwas matt.
   - 5. IV. Sehr munter.
   - 10. IV. 2. Injection: 1·0 ccm natürl. Schweineseuche-Aggressin subcut.
   - 17. IV. 3. „ : 1·0 „ „ „ „ „
   - 4. V. Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   - 6. V. Munter.
   - 8. V. Es entwickelt sich ein Abscess.
   - 8. VII. Sehr munter.

2. Meerschweinchen. (Controle zu Nr. 1.)
   - 4. V. Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   - 6. V. Munter.
   - 8. V. Krank.
   - 10. V. †.

3. Meerschweinchen. (S. Versuch I, Nr. 3.)
   - 6. IV. 1. Injection: 1·5 ccm natürl. Schweineseuche-Aggressin subcut.
   - 17. IV. 2. „ : 1·0 „ „ „ „ „
   - 25. IV. 3. „ : 1·0 „ „ „ „ „
   - 8. V. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   - 3. VI. Sehr munter.
   - 8. VII. „ „

4. Meerschweinchen. (Controle zu Nr. 3.)
   - 8. V. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   - 13. V. †.

5. Meerschweinchen (400 grm schwer).
   - 4. V. 1. Injection: 1·0 ccm natürl. Schweineseuche-Aggressin subcut.
   - 17. V. 2. „ : 1·0 „ „ „ „ „
   - 25. VI. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   - 6. VI. Sehr munter.
   - 8. VII. „ „



6. Meerschweinchen, 800 grm schwer. (Controle zu Nr. 5.)

25. V.	Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.		
27. V.	Infiltrat.	6. VI.	Sehr mager.
29. V.	Leicht krank.	8. VI.	†.
2. VI.	Mager und krank.		

Auch durch eine einmalige Injection von Aggressin kann man Meerschweinchen immunisiren, wenn man eine genügend grosse Dosis giebt. Bemerkenswerth ist hierbei, dass eine Dosis von 1·5 ccm z. B., die zur Virulenzsteigerung sehr wohl ausreicht, zur Immunisirung nicht genügt.

Versuch XIII.

1. Meerschweinchen (s. Versuch IV, Nr. 3).

17. V. 1·5 ccm Schweineseuche-Aggressin subcutan.
25. V. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
27. V. Krank.
29. V. †.

2. Meerschweinchen.

18. VI. 1·5 ccm Schweineseuche-Aggressin subcutan.
3. VII. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
5. VII. Krank.
6. VII. Sehr schwer krank.
7. VII. †.

3. Meerschweinchen (s. Versuch II, Nr. 3).

8. IV. 3·0 ccm Schweineseuche-Aggressin subcutan.
28. IV. Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche subcutan.
8. V. Sehr munter.
8. VII. Sehr munter.

4. Meerschweinchen (Controle zu Nr. 3).

28. IV. Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
29. IV. Krank.
2. V. Schwer krank.
3. V. †.

Ausser Kaninchen und Meerschweinchen habe ich auch weisse Mäuse mit Hülfe der Kaninchen-Aggressine zu immunisiren gesucht. Allein die Resultate waren sehr wenig ermuthigend. Die meisten Thiere gingen während der Immunisirung ein, darunter sehr viele unter der Erscheinung der Carbolvergiftung.

Die wenigen Thiere endlich, die den Immunisirungsprocess glücklich überstanden, zeigten günstigsten Falls eine Resistenzerhöhung in dem Sinne, dass sie die Controlmäuse um wenige Tage überlebten.

Das Ergebniss dieser zahlreichen Thierversuche wird man dahin zusammenfassen können, dass es mit Hülfe der sterilen Exsudate an Schweineseuchebakterien-Infection gestorbener Kaninchen gut



gelingt, Kaninchen und Meerschweinchen gegen vielfach tödtliche Dosen zu schützen.

Beweist aber dieses Resultat die von Bail aufgestellte Theorie, dass es sich hier um eine Immunität handelt, die von der baktericiden wesensverschieden ist? Ist damit etwa das Vorhandensein von bakteriellen Angriffsstoffen unwiderleglich bewiesen?

Die Antwort auf diese Fragen geben uns die Versuche, die ich mit den serösen und wässerigen Schweineseuchebakterien-Auszügen angestellt habe, und die ich nun folgen lassen will. Zu bemerken ist, dass nur solche Bakterienextracte zu Immunisirungszwecken verwendet wurden, die vorher auf ihre virulenzsteigernde Fähigkeit untersucht worden waren.

Versuch XIV.

1. Meerschweinchen, 400 grm schwer. (S. Versuch IV, Nr. 5.)
   17. V. 2·5 ccm seröser Schweineseuchen-Extract subcutan.
   25. V. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche subcutan.
   8. VI. Locales Infiltrat. Sehr munter.
   15. VII. Sehr munter.
2. Meerschweinchen, 800 grm schwer. (Controle zu Nr. 1.)
   25. V. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche subcutan.
   8. VI. †.
3. Meerschweinchen, 250 grm schwer.
   18. VI. 2·5 ccm seröser Schweineseuchen-Extract subcutan.
   3. VII. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche subcutan.
   15. VII. Sehr munter.
4. Meerschweinchen, 250 grm schwer. (Controle zu Nr. 3.)
   3. VII. Infection: $^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   4. VII. †.

Versuch XV.

1. Meerschweinchen.
   3. VI. 2·0 ccm wässeriger Schweineseuchen-Extract subcutan.
   19. VI. Infection: $^1/_2$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   15. VII. Sehr munter.
2. Meerschweinchen.
   5. VI. 2·5 ccm wässeriger Schweineseuchen-Extract subcutan.
   19. VI. Infection: $^1/_4$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   24. VI. Abscess.
   15. VII. Sehr munter.
3. Meerschweinchen. (Controle zu Nr. 1 u. 2.)
   19. VI. Infection: $^1/_4$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
   23. VI. †.

Versuch XVIa.

1. Kaninchen.
   16. VI. 2·5 ccm wässeriger Schweineseuchen-Extract subcutan.
   4. VII. Infection: $^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.



15. VII. Kleines locales Infiltrat. Sehr munter.
3. X. Sehr munter.

2. Kaninchen. (Controle zu Nr. 1.)
4. VII. Infection: $^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
5. VII. †.

3. Kaninchen.
16. VI. 2·5 ccm wässeriger Schweineseuchen-Extract subcutan.
4. VII. 3·0 „ „ „ „ „
19. VII. Infection: $^1/_{100}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
3. X. Sehr munter.

4. Kaninchen. (Controle zu Nr. 3.)
19. VII. Infection: $^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
20. VII. †.

5. Kaninchen.
3. VI. 1. Injection: 4·0 ccm wässerig. Schweineseuchen-Extract subcut.
14. VI. 2. „ 2·0 „ „ „ „ „
25. VI. Serumentnahme.
4. VII. 3. Injection: 3·0 ccm wässerig. Schweineseuchen-Extract subcut.
17. VII. Serumentnahme.
21. VII. Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
12. IX. Ganz munter.
3. X. „ „

6. Kaninchen. (Controle zu Nr. 5.)
21. VII. Infection: $^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche subcutan.
22. VII. †.

Versuch XVIb.

I. Kaninchen.
19. VI. 1. Injection: 2·5 ccm Schweineseuchen-Kaninchenser.-Extract subc.
4. VII. 2. „ 2·0 „ „ „ „ „
12. VII. 3. „ 4·0 „ „ „ „ „
24. VII. 1. Infection: $^1/_{10}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
25. VII. Munter.
22. IX. 2. Infection: 1 Oese Schweineseuche IV intravenös.
3. X. Munter.

II. Kaninchen. (Controle I.)
24. VII. Infection: $^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan.
25. VII. †.

III. Kaninchen. (Controle II.)
22. IX. Infection: $^1/_{100000}$ Oese Schweineseuche IV intravenös.
23. IX. †.

Aus den angeführten Versuchen erkennt man, dass eine einmalige oder sehr wenige Injectionen von Bakterienextracten in gleicher Weise wie die natürlichen Aggressine Kaninchen und Meerschweinchen gegen Schweineseuche zu immunisiren vermögen. Da es nun ausgeschlossen ist,



dass die Bakterien im Kampfe mit dem destillirten Wasser Angriffsstoffe, Aggressine, gegen diesen Feind bilden, so muss man annehmen, dass bei der Erzeugung der virulenzsteigernden-immunisirenden Substanz, die Bakterien eine passive Rolle spielen, indem sie einfach von dem Lösungsmittel gleichsam ausgelaugt werden. Der Unterschied zwischen der bactericiden und der Aggressinimmunität ist demzufolge kein qualitativer, indem in beiden Fällen dieselbe in den Bakterien befindliche und im Körper frei werdende Substanz die Antikörperproduction auslöst. Die Differenz besteht nur darin, dass bei Anwendung von lebenden virulenten Bakterien in Folge der Vermehrung der Keime im Organismus eine Dosirung dieser Substanz unmöglich ist und demnach die Thiere bereits bei der Vorbehandlung zumeist sterben, bevor noch genügend Antikörper vorhanden sind.

Der Unterschied gegenüber der Immunisirung mit morphologisch wohl erhaltenen abgetödteten Bakterien liegt darin, dass wir mit dem natürlichen Aggressin wie mit unseren Extracten die zur Immunitätsauslösung nöthigen Stoffe des Bakterienleibes ohne vorherige Schädigung (durch Erhitzen u. s. w.) in einer sofort resorbirbaren Form geben. Daneben fehlen noch in den Extracten gewisse toxische gewebsschädigende Substanzen oder sind wenigstens sehr verringert, welche in den Bakterienleibern in grossen Mengen vorhanden sind. Denn während die subcutane Injection abgetödteter Schweineseuche- oder Pest-Culturen ausnahmslos starke örtliche Gewebsschädigungen hervorruft, wird die subcutane Injection der Extracte vom Gewebe ohne jede locale Reaction vertragen. Während ferner der intravenösen oder intraperitonealen Injection abgetödteter Culturen dieser Classe in Folge der toxischen Beimengungen stets Abmagerung, und bei Wiederholung der Tod unter dem Zeichen des chronischen Marasmus folgt, tritt dieses bei den Extracten nicht ein. Deshalb kann man von den letzteren so viel geben, als zur immunitätsauslösenden Reaction nöthig ist, was bei abgetödteten Culturen in Folge ihrer Toxicität gewöhnlich nicht gelingt.

III. Passive Immunisirung.

Handelt es sich bei der Schutzimpfung mit Bakterienextracten um eine echte Serumimmunität oder um eine nicht specifische Resistenzerhöhung, wie sie durch Injection von mancherlei reizenden Substanzen gewonnen werden kann? Diese Frage findet ihre Beantwortung zum Theil schon in der Höhe des erreichten Schutzes, indem eine Resistenzsteigerung, die die 1000 bis 100 000 fache tödtliche Dosis ertragen



lässt, ohne Beispiel ist. Zweifelsfrei wird aber die Entscheidung durch die Untersuchung des Serums der immunisirten Thiere. Finden sich dort specifische Antikörper, die ihrerseits zur passiven Immunisirung dienen können, dann ist die Immunität bewiesen.

Versuch XVII.

[Kaninchen (s. Versuch X, Nr. 1).

4. IV.	1. Injection:	$2 \cdot 0^{\text{ccm}}$	natürlich.	Schweineseuchen-Aggressin	subcut.	
13. IV.	2. „	$1 \cdot 0$ „	„	„	„	„
25. IV.	3. „	$1 \cdot 0$ „	„	„	„	„
2. V.	4. „	$2 \cdot 0$ „	„	„	„	„
11. V.	Serumentnahme aus dem Ohr.]					

Die Prüfung dieses Serums, kurz Antiaggressin Nr. 1 genannt, an Kaninchen ergiebt folgendes Resultat:

Nr.	Thier	Infections-Datum	Normales Kaninchen-serum 24 Stunden vorher	Anti-aggressin I 24 Stunden vorher	Infectionsdosis (D. l. $^1/_{10000}$ Oese)	Ausgang
1	Kaninchen	13. V.	—	—	$^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	† nach 2 Tagen.
2	„	„	4^{ccm} subcut.	—	desgl.	† nach 2 Tagen.
3	„	„	—	4^{ccm} subcut.	desgl.	Bleibt am Leben.
4	„	16. V.	—	—	desgl.	† nach 2 Tagen.
5	„	„	1^{ccm} subcut.	—	desgl.	† nach 2 Tagen.
6	„	„	—	1^{ccm} subcut.	desgl.	Bleibt am Leben.

Versuch XVIII.

[Kaninchen (s. Versuch X, Nr. 5).

7. VI.	1. Injection:	$2 \cdot 5^{\text{ccm}}$	natürlich.	Schweineseuchen-Aggressin	subcut.	
16. VI.	2. „	$2 \cdot 0$ „	„	„	„	„
25. VI.	Serumentnahme aus dem Ohr.]					

Prüfung des Serums (Antiaggressin Nr. 2) an Kaninchen.

Nr.	Thier	Infections-Datum	Antiaggressin II 24 Std vorher	Infectionsdosis	Ausgang
1	Kaninchen	27. IV.	—	$^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	† nach 24 Stdn.
2	„	„	$2 \cdot 0^{\text{ccm}}$ subcut.	desgl.	Bleibt am Leben.
3	„	„	$1 \cdot 0$ „ „	desgl.	Bleibt am Leben.



Prüfung des Serums (Antiaggressin Nr. 2) an Meerschweinchen.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis	Anti-aggress. II 24 Stunden vorher	Ausgang
1	Meerschw.	27. VI.	$^1/_5$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	2. VII. †.
2	„	„	desgl.	1·0 ccm	Bleibt am Leben.
3	„	„	desgl.	0·5 „	5. VII. †.
4	„	„	desgl.	0·3 „	Bleibt am Leben.
5	„	„	desgl.	0·1 „	28. VI. leicht krank. 5. VII. krank. 6. VII. erholt sich wieder. Bleibt am Leben.

Prüfung des Serums (Antiaggressin Nr. 2) an weissen Mäusen.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis	Anti-aggress. II 24 Stunden vorher	Ausgang
1	Maus	27. VI.	$^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	† nach 2 Tagen.
2	„	„	desgl.	1·0 ccm subc.	Bleibt am Leben.
3	„	„	desgl.	0·5 „ „	„ „ „
4	„	„	desgl.	0·2 „ „	„ „ „
5	„	„	desgl.	0·1 „ „	† nach 9 Tagen.

Versuch XIX.

[Kaninchen.
6. IV. 2·0 ccm Schweineseuchen-Aggressin subcutan.
17. IV. 2·0 „ „ „ „
2. V. 2·0 „ „ „ „
11. V. 1. Serumentnahme aus dem Ohr. Antiaggressin Nr. IIIa.
12. V. 2·0 ccm Schweineseuchen-Aggressin subcutan.
24. V. 2. Serumentnahme aus dem Ohr. Antiaggressin Nr. IIIb.]

Prüfung von Serum IIIa an Mäusen.

Nr.	Datum	Infectionsdosis	Normales Kaninchenserum	Anti-aggressin IIIa	Ausgang
		(D. l. $^1/_{10000}$ Oese) in 48 Stunden			
1	13. V.	$^1/_{5000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	—	† nach 48 Stdn.
2	„	desgl.	3·0 ccm subcutan (24 Std. vorher)	—	† nach 48 Stdn.
3	„	desgl.	—	3·0 ccm subcutan (24 Std. vorher)	Bleibt dauernd am Leben.
4	„	desgl.	1·0 ccm subcutan (24 Std. vorher)	—	† nach 48 Stdn.



(Fortsetzung.)

Nr.	Datum	Infectionsdosis	Normales Kaninchenserum	Anti-aggressin IIIa	Ausgang
5	13. V.	$^1/_{5000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	1·0 ccm subcutan (24 Std. vorher)	Bleibt dauernd am Leben.
6	16. V.	desgl.	—	—	† nach 48 Std.
7	„	desgl.	0·2 ccm subcutan (24 Std. vorher)	—	† nach 48 Std.
8	„	desgl.	—	0·2 ccm subcutan (24 Std. vorher)	Bleibt dauernd am Leben.
9	„	desgl.	0·1 ccm subcutan (24 Std. vorher)	—	† nach 48 Std.
10	„	desgl.	—	0·1 ccm subcutan (24 Std. vorher)	† am 5. Tage.
11	„	desgl.	0·01 ccm subcutan (24 Std. vorher)	—	† nach 48 Std.
12	„	desgl.	—	0·01 ccm subcutan (24 Std. vorher)	† nach 48 Std.
13	„	$^1/_{1000}$ Oese Schweineseuche IV subcutan	—	0·2 ccm subcutan (24 Std. vorher)	† am 6. Tage.
14	„	desgl.	—	0·1 ccm subcutan (24 Std. vorher)	Bleibt am Leben.
15	„	desgl.	—	0·01 ccm subcutan (24 Std. vorher)	† am 5. Tage.

Prüfung von Serum Antiaggressin Nr. IIIb.

Mäuseversuch 1.

Das zur Verwendung gelangende Antiaggressin Nr. IIIb stammt vom Kaninchen nach 4 maliger Injection von je 2 ccm Aggressin.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis Schweineseuche IV subcutan	Normales Kaninchen-serum (24 Std. vorher)	Anti-aggressin IIIb (24 Std. vorher)	Ausgang
1	Maus	26. V.	$^1/_{10000}$ Oese	—	—	† in 48 Std.
2	„	„	$^1/_{1000}$ „	—	—	† in 48 Std.
3	„	„	$^1/_{10000}$ „	1·0 ccm subcut.	—	† in 24 Std.
4	„	„	$^1/_{10000}$ „	0·1 „ „	—	† in 48 Std.
5	„	„	$^1/_{100}$ „	—	1·0 ccm subcut.	† in 24 Std.
6	„	„	$^1/_{10}$ „	—	1·0 „ „	† am 5. Tage.
7	„	„	$^1/_{1000}$ „	—	0·1 „ „	Bleibt am Leben.
8	„	„	$^1/_{100}$ „	—	0·1 „ „	Bleibt am Leben.
9	„	„	$^1/_{1000}$ „	—	0·01 „ „	† am 3. Tage.
10	„	„	$^1/_{100}$ „	—	0·01 „ „	† in 24 Std.



Mäuseversuch 2.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis Schweineseuche IV subcutan	Antiaggressin IIIb (24 Stunden vorher)	Ausgang
1	Maus	27. VI.	$^1/_{1000}$ Oese	—	† 29. VI.
2	„	„	desgl.	1·0 ccm	Bleibt am Leben.
3	„	„	desgl.	0·5 „	Bleibt am Leben.
4	„	„	desgl.	0·2 „	Bleibt am Leben.
5	„	„	desgl.	0·1 „	6. VII. †.

Versuch XX.

[Kaninchen (s. Versuch X, Nr. 3).

6. IV.	1·0 ccm	Schweineseuchen-	Aggressin	subcutan.	
17. IV.	1·0 „	„	„	„	
25. IV.	1·0 „	„	„	„	
1. V.	2·0 „	„	„	intraperitoneal.	
12. V.	2·0 „	„	„	„	
4. VI.	Serum aus dem Ohr entzogen.]				

Das Serum erhält die Bezeichnung Antiaggressin IV und wird an Meerschweinchen geprüft.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis Schweineseuche IV subcutan	Antiaggressin IV (24 Stunden vorher) subcutan	Ausgang
1	Meerschw.	6. VI.	1 Oese	1·0 ccm	Bleibt am Leben.
2	„	„	$^1/_2$ „	0·2 „	Bleibt am Leben.
3	„	„	$^1/_2$ „	0·1 „	Bleibt am Leben.
4	„	„	$^1/_2$ „	—	† nach 2 Tagen.

Das Ergebniss all dieser Versuche ist ein ganz unzweideutiges. Es ist möglich mit dem Serum activ gegen Aggressin immunisirter Kaninchen andere Kaninchen sowie Meerschweinchen und weisse Mäuse gegen vielfach tödtliche Dosen zu schützen, während normales Kaninchenserum in gleicher Menge keine Resistenzerhöhung gegen diese Infectionsmengen bewirkt. Mit anderen Worten, die Existenz specifischer Antikörper im Serum unterliegt keinem Zweifel.

Wie verhalten sich nun die mit arteficiellen Bakterienextracten immunisirten Kaninchen in dieser Hinsicht? Treten auch hier im Serum specifische Antikörper auf?



Versuch XXI.

[Kaninchen (s. Versuch XVIa, Nr. 5).
3. VI. 1. Injection: 4·0 ccm Schweineseuchen- dest. Wasser-Extract subc.
14. VI. 2. „ : 2·0 „ „ „ „ „ „
25. VI. 1. Serumentnahme aus der Ohrvene.
4. VII. 3. Injection: 3·0 ccm Schweineseuchen- dest. Wasser-Extract subc.
17. VII. 2. Serumentnahme.]

Prüfung
des nach der 2. Injection entnommenen Serums an Meerschweinchen.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis Schweineseuche IV subcutan	Anti-Wasser-Aggressin (24 Std. vorher) subcutan	Ausgang
1	Meerschw.	27. VI.	1/5 Oese	—	2. VII. †.
2	„	„	desgl.	1·0 ccm	29. VI. krank. 5. VII. munter, Abscess. 8. VII. munter. 22. VII. munter.
3	„	„	desgl.	0·5 „	28. VI. †.
4	„	„	desgl.	0·1 „	28. VI. leicht krank. 5. VII. Abscess. 8. VII. munter. 22. VII. munter.

Prüfung des Serums an Mäusen.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis	Anti-Wasser-Aggressin	Ausgang
1	Maus	27. VI.	1/1000 Oese	—	† nach 2 Tagen.
2	„	„	desgl.	0·5 ccm	† nach 11 Tagen.
3	„	„	desgl.	0·2 „	Bleibt am Leben.
4	„	„	desgl.	0·1 „	† nach 3 Tagen.

Prüfung des nach der 3. Injection entnommenen Serums.

a) An Kaninchen.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis	Anti-Wasser-Aggressin	Ausgang
1	Kaninchen	20. VII.	1/1000 Oese	1·0 ccm	24. VII. leicht krank. 24. VIII. munter. 24. XI. munter.
2	„	„	desgl.	—	21. VII. †.

b) An Mäusen.

Nr.	Thier	Datum	Infectionsdosis	Anti-Wasser-Aggressin	Ausgang
1	Maus	20. VII.	1/1000 Oese	—	† nach 1 Tag.
2	„	„	desgl.	0·5 ccm	Bleibt am Leben.
3	„	„	desgl.	0·2 „	Bleibt am Leben.
4	„	„	desgl.	0·1 „	† nach 4 Tagen.
5	„	„	desgl.	0·05 „	† nach 3 Tagen.



Dieser Versuch beweist, dass in dem Serum eines Kaninchens, das mit den wässerigen Auszügen von Schweineseuchebakterien immunisirt wird, schon nach 2 Injectionen sich specifische Antikörper vorfinden, die sowohl Meerschweinchen wie weisse Mäuse vor der mehrfach tödtlichen Dosis schützen resp. die Lebensdauer dieser Thiere bedeutend verlängern können. Der Schutz ist kein sehr bedeutender, d. h. die Antikörper sind quantitativ noch wenig zahlreich. Aber das ist hier nebensächlich, da es hier nur auf den Nachweis der Antikörper in qualitativer Hinsicht ankommt, auf die principielle Feststellung, dass es sich hier um die gleichen Processe wie bei der Antiaggressinbildung handelt. Und das beweisen die im Versuch XXI zusammengestellten Experimente in genügender Weise.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Hrn. Prof. Wassermann, in dessen Laboratorium ich diese Arbeit ausgeführt habe, für das lebhafte Interesse, das er ihr entgegengebracht hat, zu danken.

[Aus dem pharmakologischen Institut in Bonn.]
(Director: Geheimrath Binz.)

Ueber die Einwirkung von Brillantgrün auf Nagana-Trypanosomen.

Von

Prof. **H. Wendelstadt** und **T. Fellmer.**

(Hierzu Taf. V.)

In einer kurzen Mittheilung[1] haben wir eine Reihe von Versuchen publicirt, die mit den verschiedensten Substanzen angestellt wurden, um deren Wirkung auf Nagana-Trypanosomen festzustellen. Der wirksamste Stoff, den wir damals fanden, war Malachitgrün. Bald nach dieser Veröffentlichung haben wir das Malachitgrün verlassen und an seine Stelle das Brillantgrün gesetzt (Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen). Das Brillantgrün ist das Sulfat des Tetraaethyldiparaamidotriphenylcarbinols.

Vor unserer ersten Publication, während wir mit Malachitgrün arbeiteten, erschien die interessante und werthvolle Veröffentlichung von Ehrlich und Shiga[2] über Erfolge, welche mit Trypanroth erzielt worden waren.[3] Das Trypanroth hat eine zweifellose und dauernde Wirkung bei den Trypanosomen des Mal de Caderas. Ehrlich, dem wir auf dem Gebiete der Einwirkung von Farbstoffen auf die Gewebe so viele Entdeckungen verdanken, und sein Schüler hatten hier zuerst den Weg der Behandlung der Trypanosomiasis mit Farbstoffen betreten. Durch diese Untersuchungen war uns gegen

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 47.

[2] **Ehrlich** und **Shiga**, Farbentherapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankung. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 13 u. 14.

[3] **E. Franke**, Therapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankung. *Dissertation.* Giessen 1905.



die eine Art von Trypanosomen ein Heilmittel an die Hand gegeben worden. Das Trypanroth war in seiner Wirkung auf Nagana-Trypanosomen nicht so energisch wie gegen Mal de Caderas. Ein weiteres Suchen nach wirksamen Substanzen aus der Reihe der Farbstoffe war nach den Erfolgen des Trypanrothes und des Malachitgrüns jedenfalls angezeigt. Von allen von uns ausgeprobten Stoffen ist das Brillantgrün in seiner Wirkung am zuverlässigsten. Eine dauernde Heilung haben wir mit ihm allein nicht erzielen können. Das Erreichte schien uns aber interessant genug, um es zu veröffentlichen, namentlich da unsere Erfahrungen und Beobachtungen sich für andere Arbeiter auf demselben Gebiete vielleicht als nützlich erweisen könnten.

Beide Farben, Malachitgrün und Brillantgrün, haben den Fehler, dass sie, in der wirksamen Concentration unter die Haut gebracht, unangenehme Wunden machen; das Brillantgrün allerdings weniger als das Malachitgrün. Von einer intraperitonealen Beibringung des Brillantgrüns, das dann in sehr viel stärkerer Verdünnung sich noch wirksam erweist, haben wir bald abgesehen, weil es schlimme peritoneale Reizungen macht, die meist zu einer Verwachsung der Milz bei unseren Ratten führten. Subcutan wirkt ein Cubiccentimeter einer Lösung von Brillantgrün in Wasser 1 : 200 (intraperitoneal 1:2000—2500) fast regelmässig so, dass in 24—30 Stunden aus dem Blute einer Ratte, das ganz mit Krankheitserregern überschwemmt ist, die Nagana-Trypanosomen verschwunden sind. Bei mehreren Hundert weissen Ratten, die wir im Laufe unserer Arbeit untersucht haben, war das Resultat meist das Gleiche: nach 24—30 Stunden konnten wir bei Ratten in keinem der mikroskopischen Präparate mehr normale Trypanosomen finden. Ebenso war die Wirkung bei einem Rhesus-Affen, den wir behandelten.

Unser Infectionsstoff (Nagana-Trypanosomen), den wir der Güte des Institutes für Infectionskrankheiten in Berlin verdanken, tödtete weisse Ratten in 5—6 Tagen nach intraperitonealer Infection. Am 4. Tage ist das Blut mit Trypanosomen überschwemmt. Die Präparate zur Untersuchung wurden, nachdem sie lufttrocken waren, mit Alkohol und Aether zu gleichen Theilen fixiert und nach Giemsa gefärbt. Wenn man alle 7—8 Tage einer inficirten Ratte eine Injection von Brillantgrün macht, so kann man sie lange nach der Infection am Leben erhalten. Eine von unseren Versuchsratten blieb 72 Tage lang leben. Der Tod tritt ein, ohne dass Trypanosomen im Blute nachweisbar sind, unter den Erscheinungen der Entkräftung, wie Nissle[1] fand, durch Veränderungen im Zustande des Blutes.

[1] Nissle, Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Thiere. *Archiv für Hygiene.* 1905. Bd. LIII.



Bei den an Nagana-Trypanosomen erkrankten Ratten schwillt bekanntlich die Milz sehr stark an. Diese Schwellung geht bei der Behandlung mit Brillantgrün jedesmal bis zur normalen Grösse des Organs zurück.

Findet nach der ersten Injection von Brillantgrün keine weitere Behandlung mehr statt, so treten nach 6—7 Tagen wieder Trypanosomen im Blute auf, und die Ratte stirbt nach weiteren 5—6 Tagen. Impft man in der Zeit, in welcher sich keine Trypanosomen mehr mikroskopisch nachweisen lassen, das Blut einer einmal mit Brillantgrün behandelten Ratte auf eine unbehandelte über, so entwickeln sich bei der letzteren Trypanosomen; aber die Entwickelung geht nicht so schnell vor sich, als wenn man mit gewöhnlichem Infectionsstoff inficirt. Statt nach 2—3 Tagen findet man erst nach 5—6—12 Tagen die Krankheitserreger im Blute.

Versuche hatten ergeben, dass die beste Wirkung mit Brillantgrün erzielt wurde, wenn man Ratten am 4. Tage nach der Infection dreimal mit je 1 ccm Brillantgrün in einer Lösung von 1 : 200 subcutan behandelt, und zwar so, dass man am 4., 6. und 9. Tage eine Einspritzung macht. In dieser Anordnung wurde der folgende Versuch angestellt.

Versuch I.

Es wurden 14 Ratten (Nr. 385 bis 398) am 21. I. 1905 mit Nagana inficirt. Am 25. I. fanden sich bei allen reichlich Trypanosomen im Blute. Darauf folgte am 26., 28. und 30. I. die Behandlung mit Brillantgrün. Vom 31. I. ab wurde von diesen Ratten täglich eine Morgens um 9 Uhr und eine Abends um 9 Uhr getödtet, und Blut, Milz und Cerebrospinalflüssigkeit mikroskopisch untersucht. Bei den ersten 12 dieser Ratten fanden sich noch keine Anzeichen von wieder auftretenden Parasiten. Bei Ratte 13 konnten wir im Milzausstrich verschwommene, trypanosomenähnliche, kleine Gebilde unterscheiden. Bei Ratte 14, die erst am 9. Tage nach der Behandlung getödtet wurde, fanden sich vereinzelte Trypanosomen im Blutausstrich. Von besonderem Interesse aber waren die Milzausstriche von diesem Thiere (Taf. V, Fig. 11), auf die wir später zurückkommen. Die Cerebrospinalflüssigkeit war stets frei.

Von diesen Ratten wurden Ueberimpfungen gemacht, und zwar so, dass einer Ratte 0·5 ccm reines Blut in das Peritoneum injicirt, einer zweiten ein Stück Milz in eine Hauttasche eingeführt wurde. Es ergab sich aus diesem Versuche, wie nachstehende Tabelle zeigt, dass die Infectionen mittels Blut (mit Ausnahme von Ratte Nr. 401, getödtet am Tage nach der letzten Brillantgrünbehandlung) immer positiv ausfielen. Nur ist die Incubationszeit, je länger das Thier nach der letzten Behandlung noch lebte, eine kürzere, schwankend von 6 bis 1 Tag. Ebenso variirt auch die Krankheitsdauer bis zum Tode zwischen 12 und 4 Tagen.

Bei den Thieren, die mit Milz inficirt wurden, fielen die ersten vier Impfungen negativ aus; die anderen 10 sind positiv und führen um so schneller zum Tode, je längere Zeit das zur Ueberimpfung benützte Thier nach der letzten Brillantgrünbehandlung gelebt hatte.



Versuch I.

Infection mit 0·5 ccm Blut				Infection mit Milz		
Nr.	Infection am	Erstes Erscheinen von Tryp.	Todt	Nr.	Erstes Erscheinen von Tryp.	Todt
399	31. I. 9h a. m.	nach 6 Tagen	nach 12 Tagen	400	negativ	
401	31. I. 9h p. m.	negativ		402	„	
403	1. II. 9h a. m.	nach 6 Tagen	„ 11 „	404	„	
405	1. II. 9h p. m.	„ 6 „	„ 11 „	406	„	
407	2. II. 9h a. m.	„ 4 „	„ 8 „	408	nach 5 Tagen	nach 11 Tagen
409	2. II. 9h p. m.	„ 4 „	„ 7 „	410	„ 7 „	„ 12 „
411	3. II. 9h a. m.	„ 4 „	„ 9 „	412	„ 9 „	„ 13 „
413	3. II. 9h p. m.	„ 3 „	„ 10 „	414	„ 5 „	„ 11 „
415	4. II. 9h a. m.	„ 2 „	„ 8 „	416	„ 5 „	„ 9 „
417	4. II. 9h p. m.	„ 4 „	„ 9 „	418	„ 6 „	„ 10 „
419	5. II. 9h a. m.	„ 4 „	„ 7 „	420	„ 6 „	„ 10 „
421	5. II. 9h p. m.	„ 5 „	„ 10 „	422	„ 8 „	„ 12 „
423	6. II. 9h a. m.	„ 1 Tag	„ 7 „	424	„ 5 „	„ 7 „
425	8. II. 9h a. m.	„ 1 „	„ 4 „	426	„ 2 „	„ 7 „

Aus dem Versuch ergiebt sich, dass nach Behandlung mit Brillantgrün ein Zeitpunkt eintreten kann, in dem das Blut des behandelten Thieres nicht mehr im Stande ist, eine Infection bei einem zweiten Thiere hervorzurufen, obgleich das erste Thier nach Ablauf einer gewissen Zeit wieder Trypanosomen im Blute zeigt und daran zu Grunde geht.

Es schliessen sich hieran zwei weitere Versuche (Versuch II und III), in denen es uns mehrfach gelang, Ratten, deren Blut mit Trypanosomen überschwemmt gewesen war, und die dann mit Brillantgrün und daran anschliessend mit Arsenik behandelt wurden, zu einem Zeitpunkte zu tödten, wo ihr Blut selbst in grossen Mengen (2 ccm reines Blut) keine zum Tode führende Infection bei Ueberimpfung auf frische Ratten hervorrief. Auf eine merkwürdige Begleiterscheinung, das vorübergehende Auftreten schattenhafter Trypanosomen, kommen wir später zurück.

Nach den schönen Erfolgen Laveran's[1] mit Arsenik und Trypanroth mit Arsenik lag es nahe, Brillantgrün mit Arsenik combinirt bei trypanosomeninficirten Thieren zu versuchen. Wir injicirten Ratten, deren Blut mit Trypanosomen überschwemmt war, am 4., 6. und 9. Tage nach der Infection mit Brillantgrün und gaben dann täglich 0·001 grm Arsenik subcutan. Während der Arsenikbehandlung sind keine Trypanosomen nachweisbar.

[1] Laveran, Traitement mixte par l'acide arsénieux et le trypanroth des infections dues au trypanosome gambiense. *Compt. rend.* T. CIV. p. 1081.



Versuch II.

10 Ratten (Nr. 441 bis 450) wurden am 1. IV. 1905 mit Trypanosomen inficirt. Der Blutbefund war am 3. IV. positiv; darauf folgte Behandlung mit Brillantgrün am 4., 6. und 9. IV. und dann täglich bis zum 2. V., also 3 Wochen lang, eine Nachbehandlung mit Arsenik.

Nr. 441 stirbt am 11. IV. Organe normal, Blutausstrich 0 (0 = keine Trypanosomen), Milzausstrich 0, Hirncapillaren 0.

Nr. 442 getödtet 12. IV., weil das Thier sehr schwach war. Organe normal. Blutausstrich 0, Milzausstrich 0. Hirncapillaren vereinzelte Kerne von Trypanosomen.

Nr. 443 getödtet 18. IV. Organe normal. Blutausstrich 0, Milzausstrich 0, Hirncapillaren 0.

Nr. 444 stirbt 18. V. Am 6. V., also 4 Tage nach der letzten Arsenikinjection, fanden sich vereinzelte Trypanosomen im Blut. Lebte 47 Tage.

Nr. 445 stirbt 26. IV. Organe von den anderen Ratten aufgefressen.

Nr. 446 getödtet 26. IV. Organe normal. Blutausstrich 0, Milzausstrich 0, Hirncapillaren 0. Von dieser Ratte werden 2 ^{ccm} bezw. 1 ^{ccm} reines Blut auf zwei Ratten übergeimpft. Diese sterben am 2. V. mit Trypanosomen.

Nr. 447 getödtet am 29. IV. (also 20 Tage nach der letzten Brillantgrünbehandlung). Organe normal. Ausstriche 0. 2 ^{ccm} bezw. 1 ^{ccm} reines Blut wird übergeimpft auf 2 Ratten, die dauernd gesund bleiben. Von einer dieser beiden Ratten wurde am 13. V. auf eine dritte Ratte übergeimpft (Nr. 471); diese zeigt am 29. V. schattenhafte Trypanosomen im Blute, bleibt aber ohne Behandlung dauernd gesund und wurde erst am 31. VII. weiter verwendet.

Bei den letzten drei Ratten wurde abgewartet, ob eine Dauerheilung erzielt sei, oder wann nach Aussetzen der Arsenikbehandlung wieder Trypanosomen auftreten würden.

Nr. 448 ist am 15. V. wieder positiv.
Nr. 449 ist am 17. V. wieder positiv. } Starben am 22. V.
Nr. 450 ist am 18. V. wieder positiv.

Bei den drei letzten Ratten traten also am 13., 15., 16. Tage nach der letzten Arsenikinjection wieder Trypanosomen auf.

Nur bei Ratte Nr. 447 hatte sich das Blut als nicht infectiös erwiesen.

Günstigere Resultate erzielten wir bei dem folgenden Versuche.

Versuch III.

Es wurden am 7. VII. 1905 weitere 10 Ratten (Nr. 501 bis 510) inficirt; sie hatten alle am 9. VII. Trypanosomen. Darauf folgte die Behandlung mit Brillantgrün am 9., 11. und 14. VII., dann täglich 1 ^{mg} Arsenik bis zum 27. VII.

Nr. 501 stirbt am 18. VII. Organe normal. Ausstriche 0.

Nr. 502 getödtet am 19. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfung mit 2 ^{ccm} und 1 ^{ccm} Blut auf Nr. 511 und 512.

Beide bleiben dauernd frei von Trypanosomen.

Nr. 503
Nr. 504 } starben am 22. VII. Organe normal. Ausstrich 0.
Nr. 505



Nr. 506 getödtet am 24. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfungen werden mit 2 ccm und 1 ccm Blut auf Ratte Nr. 514 und 515 gemacht, die beide nicht erkranken.

Nr. 507 getödtet am 25. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfung mit 2 ccm Blut auf Ratte 516, bleibt ohne Erfolg.

Nr. 508 getödtet am 27. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfung mit 2 ccm Blut auf Ratte 517, ohne Erfolg.

Nr. 509 ist am 4. VIII. wieder positiv. Wird getödtet.

Nr. 510 lebt heute 5. XI. Blutausstrich 0.

Das Blut zeigte sich also nach 5, 10, 11 und 12 Tagen nicht infectiös. Vielleicht ist das günstige Resultat dieses Versuches darauf zurückzuführen, dass die Ratten zeitiger in Behandlung genommen wurden. Das Blut war noch nicht mit Trypanosomen überschwemmt, sondern es waren in jedem Gesichtsfelde nur wenige zu sehen. Trypanosomen waren aber bei allen gefunden worden. Bei allen anderen Versuchen haben wir mit der Behandlung gewartet bis eine grosse Menge Trypanosomen sich entwickelt hatte.

Bricht man die Arsenikbehandlung ab, so treten die Trypanosomen gewöhnlich nach 5 bis 7 Tagen auf, und die Krankheit verläuft dann meist eben so schnell wie eine Neuinfection.[1] Bei einigen Ratten verzögerte sich das Wiederauftreten von Trypanosomen länger; bei Ratte 440 erschienen sie erst nach 13 Tagen; Ratte 510 ist ohne Behandlung frei vom 27. VII. bis heute 5. XI. Jetzt 4 Monate nach der Infection ist sie als geheilt anzusehen.

Eine Ratte (Nr. 433) wurde am letzten Tage einer dreimaligen Brillantgrün- und darauf folgender 14 tägiger Arsenikbehandlung getödtet. Das Blut war frei von Trypanosomen. Zwei Ratten wurden mit dem Blute injicirt; die eine erhielt 1, die zweite 0·5 ccm Blut. Beide Ratten zeigten, die eine am 12., die zweite am 19. Tage, zahlreiche schattenhafte Trypanosomen (Taf. V, Fig. 12) ohne scharfe Conturen. Die Geisselwurzeln waren gut gefärbt, die Kerne nur angedeutet. Bei den Geisselwurzeln und den Kernen fanden sich Theilungen. Eine Weiterentwickelung dieser Tryanosomen fand aber nicht statt; das Blut der Ratten war am nächsten Tage frei und die Thiere blieben dauernd gesund. Die Uebertragung des Blutes hatte am 24. III. stattgefunden. Beide Ratten waren am 15. VI. noch gesund. An diesem Tage wurden sie mit virulentem Blute inficirt und starben in 5 und 9 Tagen. Es war also keine Immunität vorhanden. Ob eine vorübergehende Immunität

[1] Aehnliche Beobachtungen machte Bruce, der ein Pferd 45 Tage mit Arsenik behandelte und dann damit aussetzte. Nach 8 Tagen traten wieder Trypanosomen au



(Resistenz) in der Zwischenzeit bestanden hatte, können wir nach unseren Versuchen nicht entscheiden. Zur Klarstellung dieser Frage müssten grössere Versuchsreihen zu diesem Zwecke angestellt werden. Die eigenartige, von uns mehrfach beobachtete Erscheinung, dass bei der Ueberimpfung des Blutes einer behandelten Ratte in der Zeit, in welcher das Blut frei von Trypanosomen ist, unter gewissen Umständen keine normalen, sondern nur schattenhafte Trypanosomen auftreten, können wir einstweilen nicht in einer genügenden Weise erklären. Ob es sich um eine Art von kurz andauernder Immunität handelt, während welcher die mit übergeimpften Keime sich zwar zu Trypanosomen entwickeln, eine Weiterentwickelung aber nicht stattfinden kann, oder ob die übergeimpften Keime selbst durch die Behandlung mit Brillantgrün so geschädigt sind, dass sie sich nur zu den schattenhaften Formen ohne Fähigkeit einer weiteren Vermehrung entwickeln können, sind wir heute noch nicht in der Lage zu entscheiden. Die Frage wird noch besonders complicirt durch die obenerwähnte Beobachtung bei der Ratte 447 im Versuche II. Dort wurde mit dem Blute in der trypanosomenfreien Zeit eine Ratte übergeimpft, welche keine Trypanosomen im Blute zeigte. Von dieser wurde eine Ueberimpfung auf eine weitere gemacht, welche vorübergehend die eigenthümlichen Trypanosomen zeigte. Vielleicht ist uns hier das Vorhandensein der Flagellaten in dem Blute der zweiten Ratte, trotz sorgfältigstem Suchen bei der mikroskopischen Untersuchung entgangen.

Ausser einer Nachbehandlung mit Arsenik haben wir ohne jeden Erfolg auch eine solche mit Chinin versucht.

Neben den weissen Ratten haben wir auch einen **Rhesus-Affen** als Versuchsthier gebraucht. **Laveran** und **Mesnil**[1] haben Affen mit Erfolg mit Nagana inficirt; desgleichen **Nocard**, **Kanthock**, **Durham** und **Blandford**[2]. Die Affen starben alle nach kurzer Frist, nach 13 bis 15 Tagen. Ein zeitweises vollständiges Verschwinden der Trypanosomen, wie wir es bei unserem Affen sahen, wurde von den genannten Autoren nie beobachtet, wenn auch die Menge der Trypanosomen in den letzten Tagen vor dem Tode etwas zurückging.

Unser Affe wurde am 14. I. 1905 inficirt. Am 21. I. fanden wir Trypanosomen in seinem Blute. Am 23. I. wurde er mit Brillantgrün subcutan behandelt (1 ccm 0·5 proc. Lösung). Am nächsten Tage waren die Trypanosomen verschwunden. Am 26. und 30. I. machten wir weitere Brillantgrüninjectionen. Am 16. II. wurde eine Ratte mit 0·5 ccm Affen-

[1] **Laveran** et **Mesnil**, *Trypanosomes et Trypanosomiases*. 1904. p. 123.

[2] **Kanthock, Durham** u. **Blandford**, Ueber Nagana oder die Tsetsefliegenkrankheit. *Hygienische Rundschau*. 1898.



blut geimpft. Sie starb nach 6 Tagen an Trypanosomen. Am 20. II. fand sich bei dem Affen ein vereinzeltes Trypanosoma im mikroskopischen Präparat. Am 22. II. wurden keine mehr gefunden. Am 23. und 27. II. und am 4. III. wurde wieder je 1 ccm Brillantgrün, 0.5 proc. Lösung injicirt, am 11. III. Brillantgrün und 0·001 Arsenik, am 13. und 14. III. nur Arsenik. Am 5. IV. traten wieder Trypanosomen auf. Es wurde an diesem Tage eine Injection von Brillantgrün mit Arsenik gemacht. Keine Trypanosomen bis 14. April. Die nächste Injection von 1 ccm Brillantgrün in 0·5 proc. Lösung wurde am 16. IV. gemacht und am 29. IV. eine solche von 1 ccm einer 0·25 proc. Lösung mit dem Erfolge, dass erst am 7. V. wieder Trypanosomen auftraten. Am 10. V. folgte eine Injection von 1 ccm Brillantgrünlösung 1 : 2500 und 0·001 Arsenik mit einigen Tropfen Nucleïnsäure in 5 proc. Lösung in das Peritoneum. Die Nucleïnsäure hatten wir zugesetzt, weil wir in dieser Zeit Beobachtungen über die Aufnahme von Entwickelungsstadien der Trypanosomen in weissen Blutkörperchen machten, auf welche wir später eingehen werden. Die Nucleïnsäure hat die Eigenschaft, die Zahl der weissen Blutkörperchen zu erhöhen. Am 18. V. fanden wir Trypanosomen, und nach einer gleichen Behandlung an diesem Tage zeigten sie sich wieder am 27. V. Die Behandlung vom 10. und 18. Mai war also wenig wirksam und anscheinend für den Affen sehr schmerzhaft. Ratten gingen nach dieser Behandlungsart zu Grunde. Es zeigten sich bei ihnen Verwachsungen der Milz mit dem Peritoneum. Am 29. V. erhielt der Affe wieder 1 ccm Brillantgrün 0·5 Procent subcutan und am 10. VI. eine Injection von einer Lösung 1 : 2500 in das Peritoneum. Am 30. VI. nach neuem Auftreten von Trypanosomen subcutan 1 ccm 0·5 proc. Brillantgrünlösung. Am 17. VII. sind zahlreiche Trypanosomen im Blute, die am nächsten Tage ohne Behandlung verschwinden und erst nach 14 Tagen wieder auftauchen. Am 19. Juli wird eine Ratte mit 0·5 ccm Affenblut geimpft. Sie bleibt dauernd frei von Trypanosomen. Die letzte Untersuchung wurde am 4. November gemacht.

Am 31. Juli treten wieder Trypanosomen auf, worauf am 2. August eine subcutane Injection von Brillantgrün gemacht wird. Eine am 9. August mit 0.5 ccm Affenblut inficirte Ratte zeigt diesmal schon nach 4 Tagen Trypanosomen im Blut und geht am 21. VIII. daran zu Grunde.

Wenn bei dem Affen die Trypanosomen im Blute wieder auftraten, so veränderte sich sein Wesen deutlich. Er machte einen missmuthigen und müden Eindruck. Diese Erscheinungen schwanden nach der Behandlung wieder. Die Injectionen verursachten bei dem Thier Abscesse, deren Eiter steril war. An den Injectionsstellen fielen die Haare aus. Jetzt nach 3 Monaten ist der Affe wieder vollständig behaart. Siehe Nachtrag am Schlusse dieser Arbeit.



Wir benutzten ferner einen Hund als Versuchstier. Am 8. Februar 1905 inficirten wir ihn. Sein Blut war am 13. Februar stark mit Trypanosomen überschwemmt. Das Thier bekam darauf eine Injection von 1.5 ccm Brillantgrünlösung 1 : 200 subcutan. Am 15. Februar fanden wir im Blutausstrich vereinzelte Trypanosomen und freie Kerne, welche von zerfallenen Trypanosomen herrührten. Am 16. Februar folgt eine neue Injection, die ohne jeden Erfolg bleibt; denn die Blutausstriche vom 17. und 18. Februar zeigen massenhafte Trypanosomen. Hals und Gesicht des Hundes schwellen stark an. Am 21. Februar haben die Trypanosomen noch zugenommen, worauf eine intravenöse Injection von 1 ccm Brillantgrünlösung 1:800 gemacht wird. Am nächsten Tage ist der Hund todt. Die Section ergibt, dass die beiden ersten Injectionen unresorbirt in dem sehr starken Fettpolster des Hundes liegen. Die Milz ist dunkelroth, stark vergrössert und brüchig. Im Ausstrich von Milzsaft sind keine Trypanosomen zu finden. Im Blute sind Trypanosomen und viele zerfallene Kerne, die haufenweise zusammen liegen (Taf. V, Fig. 8), ebenso freie Geisselwurzeln mit anhaftender Geissel (Taf. V, Fig. 9).

Dieser Misserfolg der Behandlung, der vereinzelt dasteht, scheint uns daher zu kommen, dass der Hund einen ganz abnormen Fettansatz hatte. Die Resorption der subcutanen Injectionen war deshalb eine mangelhafte. Ob die intravenöse Injection seinen Tod herbeigeführt hat, erscheint zweifelhaft. Das Thier hatte eine sehr geringe Widerstandskraft und ist wohl an den Trypanosomen zu Grunde gegangen. Leider konnten wir bisher keine weiteren Versuche mit Hunden anstellen. Immerhin müssen wir bemerken, dass auch hier sich eine Einwirkung des Brillantgrüns in der Abnahme und im Zerfall von Trypanosomen nach der ersten Injection zeigte.

Wir haben Versuche gemacht, ob durch eine vorhergehende Behandlung einer Ratte mit Brillantgrün eine darauf folgende Injection mit Nagana-Trypanosomen beeinflusst wird. Durch eine einmalige Einspritzung des Medicamentes vor der Infection haben wir eine Verlängerung der Incubationszeit bis zu 11 Tagen erreicht, wenn wir schon 6 Stunden nach der Injection des Mittels inficirten.

Am 3. August 1905 wurden 7 Ratten (526—532) mit 1 ccm 0·5 proc. Brillantgrünlösung vorbehandelt. Nach 6 Stunden wurde die erste inficirt. Am 14. August zeigten sich bei ihr Trypanosomen, sie starb am 23. VIII.; die nächste wurde 24 Stunden nach der Vorbehandlung inficirt und die weiteren fünf mit einem Abstand von je einem Tage. Eine merkliche Einwirkung auf den Verlauf hatte bei diesen letzten 6 Ratten die Vorbehandlung nicht.

Wir sind noch mit weiteren Versuchen beschäftigt, um festzustellen, ob nicht eine längere Schutzwirkung erreicht werden kann.



Durch die Güte des Herrn **Geheimrat Ehrlich** sind wir in Besitz der Erreger des Mal de Caderas gelangt. Gegen diese Trypanosomenart wirkt das Brillantgrün bei Ratten auch in der Weise, dass eine einmalige Einspritzung sie zunächst zum Verschwinden bringt. Nach einigen Tagen erscheinen sie wieder im Blute. Die unbehandelte Controle starb nach 9, die behandelte Ratte nach 17 Tagen. Genauere Versuche über die Einwirkung der Brillantgrünbehandlung bei Mal de Caderas haben wir bisher noch nicht angestellt.

Die Behandlung mit Brillantgrün bei Ratten, welche mit Nagana-Trypanosomen inficirt waren, gab uns Gelegenheit, in den mikroskopischen Präparaten Formenveränderungen der Trypanosomen zu beobachten, die wir mit dem Untergange und der Neuentwickelung der Flagellaten in Zusammenhang stehend annehmen.

Normaler Weise vermehren sich die Nagana-Trypanosomen in der Ratte bekanntlich durch Längstheilung. Genaue Angaben hierüber finden sich bei Schilling.[1] Zunächst findet gewöhnlich eine Theilung der Geisselwurzel statt. Dieselbe verändert ihre punktförmige Gestalt, wird stäbchen- oder hantelförmig und theilt sich dann in zwei punktförmige Gebilde. Nach der Theilung der Geisselwurzel finden sich zwei Geisseln. Nachdem sich der Kern dann auch getheilt hat, findet eine Längstheilung des ganzen Thieres statt (Taf. V, Fig. 2). Nach den Beobachtungen von Schilling verläuft die Theilung nicht schematisch; die Theilung der Geisselwurzel geht einmal der Theilung des Kernes voraus, ein anderes Mal ist die Reihenfolge umgekehrt. Dass wir meist die erste Reihenfolge sahen, ist wohl als Zufall zu betrachten.

Lässt man eine Ratte unbehandelt, so gehen vor dem Tode des Versuchsthieres im Blute Trypanosomen zahlreich zu Grunde. Die spitze Form am hinteren Ende, an welchem die Geisselwurzel sitzt — wir nennen in dieser Arbeit das Ende mit der Geisselwurzel den hinteren Theil — bleibt bei diesen normalen Zerfallserscheinungen deutlich bestehen (Taf. V, Fig. 3). Im vorderen Theile bilden sich helle Flecken (Vacuolen). Das Anfangs hyaline Plasma wird fein gekörnt. Die Kerne erscheinen bröckelig und sind schwerer färbbar. Theilungsformen werden auch in diesem Stadium beobachtet. Einzelne Trypanosomen nehmen amöboïde Formen an. Schilling[2] giebt an, dass die amöboïden Formen bei dem Trypanosoma Brucei fehlen. Wir fanden sie bei unserem Naganastamm vereinzelt bei unbehandelten Ratten in diesem Stadium.

[1] Schilling, Ueber die Tsetsekrankheit oder Nagana. *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1904. Bd. XXI.

[2] A. a. O. S. 493.



Nach **Bradford** und **Plimmer**[1] sollen nur die amöboïden Formen der Phagocytose anheimfallen. Wir fanden ausser den amöboïden Formen auch normale Trypanosomen in den weissen Blutkörperchen eingeschlossen.

Kurz vor dem Tode finden sich Trypanosomentrümmer im Blut.

Wird einer Ratte, deren Blut mit Trypanosomen überschwemmt ist, was am 4. Tage nach der Infection meist der Fall ist, eine Injection von Brillantgrün gemacht, so sehen wir bei dem Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blute Formen auftreten, welche von denjenigen des normalen Zerfalles abweichen. 4 bis 5 Stunden nach der Einspritzung werden die normalen Theilungserscheinungen immer seltener. Eine Theilung des Kernes findet sich noch bei vielen Trypanosomen, aber die Geisselwurzel bleibt von jetzt ab meist punktförmig. Die Kerne färben sich schlechter als vorher.

9 bis 10 Stunden nach der Behandlung bildet sich bei der grossen Mehrzahl der Trypanosomen am hinteren Ende ein cystenartiges Gebilde, in dessen Wandung die deutlich gefärbte Geisselwurzel mit anhängender Geissel liegt (Taf. V, Fig. 4). Eine derartige Cystenbildung haben wir bei dem normalen Untergange der Trypanosomen auch, aber nur ganz vereinzelt gefunden. Normale Theilungen finden jetzt nicht mehr statt. Wenn auch noch in den Kernen Theilungsformen auftreten, so sahen wir keine bei der Geisselwurzel. Unter dem Einflusse des Brillantgrüns verlieren die Trypanosomen offenbar die Fähigkeit, sich durch normale Längstheilung zu vermehren. Da die Flagellaten später wieder auftreten, so müssen sie gegenüber der Wirkung des Medicamentes, das ihre normalen Formen vernichtet, ein Mittel finden, die Art zu erhalten. Bei diesem Vorgange scheint uns das erwähnte cystenartige Gebilde von Bedeutung zu sein. Wir möchten schon hier betonen, dass es sich bei dieser Ansicht über die Bedeutung der Cyste um eine Vermuthung handelt, die sich allerdings auf einige Beobachtungen stützt. Um über die Bedeutung der Cyste für den Entwickelungsgang der Trypanosomen völlig in's Klare zu kommen, benöthigen wir noch der unterbrochenen Reihe von Befunden bei der Wiederentwickelung der Trypanosomen. Da wir die Cyste in grossen Mengen bei den mit Brillantgrün behandelten Thieren, vereinzelt auch bei dem Untergange von Trypanosomen in dem Blute kurz vor dem Tode des unbehandelten Versuchsthieres, wenn durch die ungeheure Vermehrung der Flagellaten die Lebensbedingungen für

[1] I. R. Bradford and H. G. Plimmer, The Trypanosoma Brucei, the Organism found in Nagana, or Tse-Tse Fly Disease. *Quart. Journ. Microscop. Sci.* 1902. Nr. 179.



das Einzelindividuum ungünstiger geworden sind, gefunden haben, so ist ihr vielleicht eine Bedeutung zur Erhaltung der Art unter ungünstigen Verhältnissen zuzuschreiben.

Die von Bradford und Plimmer[1] beschriebenen Conjugationsformen treten gewöhnlich 5 bis 10 Stunden nach der Behandlung mit Brillantgrün zahlreich auf (Taf. V, Fig. 5). Die beiden Autoren beobachteten, dass gewöhnlich ein normales und ein im Verquellungsstadium befindliches Trypanosoma zur Conjugation zusammentreten. Wir sahen, dass allerdings fast regelmässig das eine der zur Conjugation gehörigen Trypanosomen im Protoplasma des vorderen Endes eine feine alveoläre Structur zeigt. Vermuthlich decken sich die beiderseitigen Beobachtungen. Schilling[2] hält diese Erscheinung für die letzte Phase der Theilung, bei der die beiden Trypanosomen nur noch an dem einen Ende zusammenhängen. Es würden demnach diese Conjugationsformen am zahlreichsten zu finden sein zu einer Zeit, wo schon die normalen Theilungserscheinungen seltener geworden sind.

Trypanosomen, welche nach der Brillantgrünbehandlung ihre normale Form behalten haben, färben sich ebenso gut als vorher.

16 bis 20 Stunden nach der Einverleibung des Brillantgrüns hört die normale Theilung ganz auf.

Nach ungefähr 15 bis 20 Stunden treten amöboïde Formen auf mit grossen Cysten, die oft in der Mitte liegen (Taf. V, Fig. 6). Die Geisselwurzel, welche in der Cystenwand liegt, färbt sich scharf purpurroth, ebenso die Geissel, während der Körper eine diffuse, blass-lilla Färbung annimmt. Die Kerne sind nicht immer erkennbar. Die Chromatinsubstanz lagert sich bei ihnen peripher. In dieser Zeit löst sich oft die Geissel mit ihrer Wurzel deutlich vom Körper ab und findet sich auch ganz frei (Taf. V, Fig. 7).

Bei dem oben erwähnten Hunde fanden sich nach der Behandlung mit Brillantgrün freie Kerne und freie Geisseln mit Wurzel oft haufenweise im Blute (Taf. V, Fig. 8). An den frei herumschwimmenden Geisselwurzeln zeigten sich Theilungserscheinungen (Taf. V, Fig. 9).

Bei Ratten, welche wir in der oben beschriebenen Weise 3 Mal mit Brillantgrün und dann 14 Tage mit Arsenik behandelten, fanden sich in den weissen Blutkörperchen Cysten mit deutlich sichtbarer wandständiger Geisselwurzel eingeschlossen (Taf. V, Fig. 10).

Bradford und Plimmer[3] fanden farblose Körper in den Leukocyten entmilzter Katzen. Sie fassen diese Körper als letztes Zerfalls-

[1] A. a. O.
[2] A. a. O.
[3] A. a. O.



stadium der Trypanosomen auf. Das Vorhandensein der Geisselwurzel erwähnen sie nicht.

Die von uns beobachteten Einschlüsse könnten möglicher Weise identisch sein mit den von Leishman[1], Donovan[2], Blanchard[3] Marchand und Ledingham[4] u. A. untersuchten sogen. Leishman-Donovan'schen Körperchen, die von Leishman und Donovan in Milzausstrichen von an Tropenfieber Gestorbenen entdeckt wurden. Donovan fasst diese Gebilde als Degenerationsformen von Trypanosomen auf, während Leishman glaubt, es könnten Entwickelungsstadien davon sein. Er fand sie als Einschlüsse von Makrophagen. Beide Forscher fanden sie nur in Milzausstrichen. Wir beobachteten diese Formen in Leukocyten (Fig. 10) auch im Blutkreislauf, wo sie schwer färbbar sind und erst dann sichtbar werden, wenn in dem Präparat durch Zufall aus den sie umgebenden rothen Blutkörperchen das Hämoglobin ausgetreten ist, wodurch ein gefärbter Untergrund entsteht, der die hellen Körperchen erkennen lässt.

Von unseren Versuchsprotokollen lassen wir hier einige folgen, aus denen die Aufeinanderfolge der einzelnen Vorgänge bei dem Verschwinden der Trypanosomen aus dem Rattenblute nach Brillantgrünbehandlung ersichtlich ist. Um eine unnöthige Breite der Darstellung zu vermeiden, bedienen wir uns dabei einer möglichst kurzen Fassung und bezeichnen nach dem Vorgange von Schilling die Mengen der vorhandenen Trypanosomen mit Kreuzen nach folgendem Schema:

+	bedeutet	1 bis 10 Trypanosoma im Deckglasausstrich.
++	„	1 bis 2 in jedem Gesichtsfelde.
+++	„	mehrere in jedem Gesichtsfelde.
++++	„	unzählige in jedem Gesichtsfelde.

Versuch I.

Ratte Nr. 375. Inficirt am 14. I. Am 19. I. mit 1 ccm Brillantgrün subcutan injicirt. Von da ab alle 5 Stunden einen Blutausstrich untersucht.

[1] B. W. Leishman, On the possibility of occurence of Trypanosomiasis in India. *Brit. Med. Journ.* 30. May 1903. p. 1252. — Discussions on the Leishman-Donovan body. *Ebenda.* 17. Sept. 1903.

[2] Donovan, On the possibility of Trypanosomiasis in India. *Ebenda.* 11. Juli 1903. p. 79.

[3] Blanchard, Note critique sur les corpuscules de Leishman-Donovan. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI. S. 145.

[4] F. Marchand u. I. C. C. Ledingham, Ueber Infection mit Leishman'schen Körperchen (Kala-Alzar) und ihr Verhältniss zur Trypanosomenkrankheit. *Diese Zeitschrift.* Bd. XLVII. S. 1.



1. Präparat vor der Behandlung: ++++ Tryp., gut färbbar, viel normale Theilungen, ganz vereinzelt verquollene Formen, die sich diffus färben.

2. Präparat 5 Stunden nach der Behandlung: ++++ Tryp. Normale Theilung seltener, Geisselwurzel nicht mehr strich-, sondern punktförmig. Mehr breite Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin. Hinteres Ende abgerundet, Cysten an der Geisselwurzel. Conjugation.

3. Präparat 10 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilung ganz vereinzelt. Kerne theils scharf gefärbt, theils heller mit peripher gelagertem Chromatin. Geisselwurzeln nur noch punktförmig. Auffallend viel Conjugation.

4. Präparat 15 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Keine Theilung mehr. Geisselwurzeln punktförmig; fast lauter breite Formen mit peripher gelagertem Chromatin und grossen Cysten an der Geisselwurzel. Vereinzelte amöboïde Formen.

5. Präparat 20 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Vereinzelte normale Formen mit normaler Theilung; meist breite, diffus gefärbte Formen mit grossen Cysten, die bei den amöboïden Formen in der Mitte gelagert sind (Taf. V, Fig. 6).

6. Präparat 25 Stunden nach der Behandlung: + Tryp. Keine Theilung. Breite, diffus gefärbte Formen. Schatten von Erythrocyten.

7. Präparat 30 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Nackte Kerne von Trypanosomen und Fetzen von Trypanosomenleibern.

8. Präparat 35 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viel Blutplättchen.

Bei diesem Versuche fanden sich noch 20 Stunden nach der Behandlung mit Brillantgrün vereinzelte normale Theilungsformen, während dieselben meist schon nach 14 bis 16 Stunden zu verschwinden pflegen.

Versuch II.

Ratte Nr. 376. Inficirt am 14. I. Am 20. I. überschwemmt mit Trypanosomen. Injection von 1 ccm Brillantgrün subcutan. Nach 4 Stunden der erste Blutausstrich; von da ab alle 5 Stunden eine Blutentnahme.

1. Präparat vor der Behandlung: ++++ Tryp. Viele normale Theilungen. Kerne gut färbbar, keine breiten Formen.

2. Präparat 4 Stunden nach der Behandlung: ++++ Tryp. Keine normale Theilung. Viel verquollene Formen, die sich diffus färben. Hinteres Ende abgerundet mit einer Cyste an der Geisselwurzel; diese meist punktförmig.

3. Präparat 9 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung. Kerne blass. Vereinzelte scharf gefärbte Trypanosomen. Vereinzelte Conjugation. Meist verquollene breite Formen.

4. Präparat 14 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung. Kerne dunkler mit peripher gelagertem Chromatin. Viele breite Formen mit grossen Cysten an der Geisselwurzel. Vereinzelte amöboïde Formen.

5. Präparat 19 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Keine Theilung. Verquollene Formen mit Cysten an der Geisselwurzel.

6. Präparat 24 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Vereinzelte nackte Kerne. Viele Schatten von Erythrocyten.



7. Präparat 29 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Vereinzelte nackte Kerne.

8. Präparat 34 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp.

Versuch III.

Ratte Nr. 386. Inficirt am 6. II. 1905. Am 11. II. überschwemmt mit Trypanosomen. Injection von 1 ^{ccm} Brillantgrün subcutan. Dann stündlich ein Blutausstrich.

1. Präparat vor der Behandlung: ++++ Tryp. Starke normale Theilung. Kerne scharf gefärbt. Hinteres Ende der Trypanosomen spitz. Keine breiten Formen.

2. Präparat 1 Stunde nach der Behandlung: ++++ Tryp. Starke Theilung, fast lauter schlanke, hinten spitze Formen. Ganz vereinzelt breite Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin.

3. Präparat 2 Stunden nach der Behandlung: ++++ Tryp. Viele normale Theilungen. Vielfach Theilungsformen am Kern, doch bleibt die Geisselwurzel punktförmig.

4. Präparat 3 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Viele normale Theilungen. Kerne scharf gefärbt. Neben schlanken Formen treten breite auf, deren hinteres Ende abgerundet ist und kleine Cysten an der Geisselwurzel zeigt. Conjugationsformen.

5. Präparat 4 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilungsformen, daneben breite Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin. Cysten an der Geisselwurzel.

6. Präparat 5 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilungsformen. Kerne scharf gefärbt. Breite Formen mit diffuser Färbung neben normalen schlanken Trypanosomen.

7. Präparat 6 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Wie das vorhergehende Präparat.

8. Präparat 7 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilung fängt an seltener zu werden. Viele Trypanosomen, in denen der Kern sich noch theilt, die Geisselwurzel aber punktförmig bleibt. Neben schlanken viel breite verquollene Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin und grossen Cysten an der Geisselwurzel.

9. Präparat 8 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Normale Theilung mit stäbchenförmiger Geisselwurzel selten, letztere meist punktförmig. Meist breite Formen mit schaumigem Körper.

10. Präparat 9 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Es zeigen sich wieder mehr Trypanosomen, aber normale Theilung ist ganz selten. Meist breite, verquollene Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin.

11. Präparat 10 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Vereinzelte normale Theilung. Kerne schlecht färbbar.

12. Präparat 11 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung mehr. Schlanke und breite Formen.

13. Präparat 12 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung. Nur noch breite Formen, deren hinteres Ende abgestumpft ist. Cysten deutlich sichtbar.

14. Präparat 14 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Verquollene, schaumige Formen mit grossen Cysten an der Geisselwurzel. Vereinzelte amöboïde Formen.

15. Präparat 16 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Das Präparat ist nicht scharf gefärbt, da das Hämoglobin ausgetreten ist. Man erkennt darin Fetzen von Trypanosomen und nackte Kerne.

16. Präparat 18 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viele Schatten von Erythrocyten.

17. Präparat 20 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viele Schatten von Erythrocyten.

18. Präparat 22 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viele Leukocyten. Blutplättchen.

19. Präparat 24 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Blut hat wieder normales Aussehen.

20. Präparat 30 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp.

Nach der Behandlung mit Brillantgrün trat, wie oben beschrieben, ein Zustand ein, in welchem es nicht mehr gelang, mit dem Blut der behandelten Ratte eine andere zu inficiren, selbst bei Injectionen von 2 ccm Blut. In dem Blute waren also keine Keime mehr, welche zur Neuentwickelung geeignet waren. Die behandelte Ratte selbst blieb aber nicht dauernd frei. Ausserhalb des Blutes mussten sich also derartige Keime — Dauerformen — befinden.

Wir suchten nach solchen Formen in der Milz von Ratten, welche mit Nagana-Trypanosomen inficirt, und deren Blut dann durch Brillantgrünbehandlung längere Zeit parasitenfrei gehalten worden war. Diese Thiere wurden, ehe die Trypanosomen wieder auftraten, getödtet, und Milzausstriche untersucht. Die von uns hierbei gemachten Beobachtungen sind lückenhaft geblieben. Wir glauben aber doch einzelne Stadien der Neuentwickelung gesehen zu haben. In den Milzausstrichen sahen wir grosse freiliegende Cysten mit deutlicher Geisselwurzel und angedeutetem Kern (Taf. V, Fig. 11*a*). Diese Cysten halten wir zur Zeit für eine Weiterentwickelung der Cysten, welche sich an dem hinteren Ende der Trypanosomen beim Untergange nach Brillantgrünbehandlung finden. Diese Cysten werden, wie oben gesagt, von den Leukocyten aufgenommen und könnten sich auch in der Milz und anderen Organen ablagern. So lange Brillantgrün oder Arsenik im Körper kreist, kommen sie nicht zur Entwickelung. Kleinere Cysten, die genau den Befunden in den Trypanosomen entsprechen würden, haben wir bisher in der Milz nicht gefunden. Die Leukocyten nehmen diese Formen in sich auf, besonders wenn Nucleïnsäure dem Thiere einverleibt worden ist (Taf. V, Fig. 10*b*).

Ferner fanden wir in der Milz Cysten, welche nicht mehr kugelrund erschienen, sondern eine mehr eiförmige Gestalt angenommen hatten. In ihnen sind Kern und Geisselwurzel gut erkennbar. Der Körper des



Trypanosomas ist anscheinend zusammengerollt schon vorhanden (Taf. V, Fig. 11*b*). Diese Cysten erscheinen kleiner als die ersterwähnten; wahrscheinlich hat das Volumen durch Zusammensinken der Wandung abgenommen.

Schliesslich fanden sich freie Trypanosomen ohne Geissel, die kaum halb so gross wie die normalen sind (Taf. V, Fig. 11*c*). Ein Vergleich mit (Taf. V, Figg. 1 und 2), welche normale Trypanosomen darstellt, die mit gleicher Vergrösserung und absolut in gleicher Weise mit dem Zeichenapparat gezeichnet worden sind, zeigt deutlich den Grössenunterschied. Wir haben diese kleinen geissellosen Trypanosomen als Jugendform angesprochen, die sich aus der Cyste (Taf. V, Fig. 11*b*) aufgerollt hat. Diese Formen wurden gefunden, zu einem Zeitpunkt, der nach unseren Erfahrungen dicht vor dem Wiederauftreten der Trypanosomen im Blute lag. Die von Wasielewski[1] erwähnte Birnenform, die er als eine Jugendform bezeichnet, ist uns nie aufgefallen.

Die Formen der Neuentwickelung in der Milz sind nicht immer mit Sicherheit zu finden, da es anscheinend davon abhängt, dass man genau zur richtigen Zeit die Ratte tödtet. Trotz einer grossen Reihe von Versuchen haben wir diese Beobachtungen nur 2 Mal machen können.

Ausser den besprochenen Vorgängen bei dem Untergange und der Neubildung der Trypanosomen machten wir noch eine Beobachtung, deren Bedeutung uns nicht klar geworden ist, auf die wir aber doch hinweisen möchten. Wenn man Rattenblut, das vorher mit Trypanosomen überschwemmt gewesen war, und das durch eine Einspritzung von Brillantgrün die Flagellaten in Zerfallstadien enthält, mit Ehrlich'schem Neutralroth versetzt und im hängenden Tropfen untersucht, so findet man darin kleine, sich braunroth färbende, kokkenähnliche Gebilde, die meist zu zweien angeordnet, in lebhaft zitternder Bewegung sind. Häufig scheinen sie sich an rothe Blutkörperchen anzuheften. Diese Körperchen haben die Grösse der Geisselwurzel von Nagana-Trypanosomen. In rothe Blutkörperchen eindringen sahen wir dieselben nicht.

Aehnliche Gebilde fanden sich massenhaft in gefärbten Präparaten. Wenn dann zwei solche Körperchen zusammenliegen, so sind sie durch zwei feine Linien mit einander verbunden. Dazwischen liegt eine ungefärbte Vacuole. Ob dies Geisselwurzeln von Trypanosomen sind, die gerade im Theilungsstadium befindlich vom Brillantgrün vernichtet wurden, müssen erst weitere Untersuchungen ergeben. Daran hängende Geissel-

[1] Wasielewski, Beitrag zur Kenntniss der Flagellaten des Rattenblutes. *Diese Zeitschrift*. 1900. Bd. XXXIII. S. 444.

[2] A. a. O.



reste oder frei herum schwimmende Geisseln im hängenden Tropfen. wie sie Nissle schildert, haben wir nicht gesehen.

Einen ähnlichen Befund scheint Moore[1] gemacht zu haben; leider konnten wir die Originalarbeit nicht einsehen.

Wir fassen die Resultate der vorstehenden Arbeit in den folgenden Sätzen zusammen:

1. Das Brillantgrün bringt die Nagana-Trypanosomen aus dem mit denselben überschwemmten Blute bei Ratten und beim Affen mit Sicherheit zum Verschwinden. Man kann mit Brillantgrünbehandlung das Leben der Ratten und der Affen verlängern. Eine Combination mit Arsenik erhöht die Wirkung und bringt unter Umständen eine Heilnng zu Stande.

2. Das Blut einer Ratte oder eines Affen, die nach der Infection mit Brillantgrün behandelt worden sind, ist zu einer gewissen Zeit nicht infectiös.

3. Bei dem Untergange der Trypanosomen im Blute nach Brillantgrünbehandlung finden sich ganz bestimmte Formen mit Cystenbildung. Dieser Cyste glauben wir eine Bedeutung bei der Neuentwickelung der Trypanosomen zuschreiben zu dürfen. Da mit dem Brillantgrün uns ein Mittel an die Hand gegeben ist, die normalen Formen der Trypanosomen zu vernichten, so ist ein genaueres Studium der Untergangsformen ermöglicht. Das Studium der Neuentwickelung der Trypanosomen wird dadurch auch erleichtert.

4. Die Neuentwickelung geht wahrscheinlich in der Milz vor sich. ob auch in anderen Organen, haben wir bisher nicht entscheiden können.

Nachtrag.

Während der Drucklegung der vorstehenden Arbeit wurde der Affe (S. 270) noch weiter beobachtet. Die letzte Behandlung fand am 2. VIII. statt. Seitdem sind in seinem Blute keine Trypanosomen mehr mikroskopisch nachgewiesen worden. Nach Ueberimpfung seines Blutes auf eine Ratte am 9. VIII. entwickelten sich bei dieser Trypanosomen. Dagegen fielen Ueberimpfungen am 28. IX, am 7. und 8. X. negativ aus. Da seit der letzten Behandlung 3 Monate ohne Recidiv verstrichen waren, so glaubten wir den Affen am 31. X. als geheilt betrachten zu dürfen und nahmen an diesem Tage eine neue Infection mit Nagana-Trypanosomen vor, über deren Verlauf wir noch nichts wissen.

[1] E. J. Moore, Some observations pointing to the intracorpuscular stage of development in the Trypanosome. *Lancet.* 1. X.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V.)

Zu allen Zeichnungen benutzten wir Zeiss Immersion, Apochrom. 2 ^{mm}, Ocular 18 und den Zeiss'schen Zeichenapparat und Zeichentisch.

Fig. 1. Normale Nagana-Trypanosomen mit hyalinem Plasma und ungetheiltem Kern. Daneben zwei rothe Blutkörperchen.

Fig. 2. Normale Nagana-Trypanosomen in Theilungsstadien. *a* Theilung der Geisselwurzel. *b* Beginnende Kerntheilung und schon entwickelte zweite Geissel. *c* Vollendete Kerntheilung. *d* Beginnende Längsspaltung.

Fig. 3. Normale Zerfallstadien, wie sie 1 bis 2 Tage vor dem Tode des Versuchsthieres und in gestandenem Blute stets zu finden sind. Das Plasma zeigt eine feinkörnige Structur. Kern und Geisselwurzel können in Theilung sein. Ueberall, selbst bei den amöboïden Formen, ist das hintere Ende zugespitzt.

Fig. 4. Trypanosomen ca. 14 Stunden nach der Behandlung mit Brillantgrün. Das hintere abgerundete Ende zeigt eine deutliche Cyste. Bei *a* ist die Geissel noch sichtbar. Bei *b* Kerntheilung ohne Theilung der Geisselwurzel.

Fig. 5. Conjugationsformen nach Behandlung mit Brillantgrün.

Fig. 6. Amöboïde Formen 14 bis 20 Stunden nach Behandlung mit Brillantgrün. Die Cyste lagert sich mehr in die Mitte. *a* Mit noch deutlich sichtbarer Geissel. *b* Geissel nicht mehr zu erkennen. *c* Nur noch die Cyste mit scharf rother Geisselwurzel zu sehen.

Fig. 7. Amöboïde Formen, bei denen sich die Geissel loslöst, und freie Geissel mit Geisselwurzel.

Fig. 8. Hundeblut nach Behandlung mit Brillantgrün. Zwischen rothen Blutkörperchen viele freie Kerne und freie Geisseln, bei deren Wurzel Theilungsformen sichtbar sind.

Fig. 9. Gleiches Präparat. Frei im Serum schwimmende Geisseln und getheilte Geisselformen.

Fig. 10. Leukocyten, in denen Cysten mit scharf gefärbten Geisselwurzeln eingeschlossen liegen.

Fig. 11. Milzausstrich beim ersten Wiederauftreten von Trypanosomen. *a* Grosse blassblaue Cyste mit scharf gefärbter Geisselwurzel und angedeutetem Kern. *b* Vier kleinere abgeplattete Cysten, in denen man zusammengerollte Trypanosomen mit Kern und Geisselwurzel erkennt. *c* Aufgerollte Trypanosomen, ungefähr halb so gross als normale. Geisseln fehlen. *d* Zwei grosse einkernige weisse Blutkörperchen.

Fig. 12. Schattenhafte Trypanosomen, die nicht vermehrungsfähig waren und keine Dauerinfection hervorriefen.



[Aus dem Königl. Institut für Infectionskrankheiten und dem hygienischen Institut der thierärztlichen Hochschule in Berlin.]

Ueber das gegenseitige immunisatorische Verhalten des Löffler'schen Mäusetyphusbacillus und der Schweinepestbacillen.[1]

Von

Prof. **A. Wassermann**, Prof. **R. Ostertag**

und

Dr. **J. Citron.**

Durch verschiedene Autoren wie Denobele, Theobald Smith, van Ermenghem und in jüngster Zeit vornehmlich durch eine unter M. Neisser's Leitung gefertigte Arbeit von Smidt ist gezeigt worden, dass die Löffler'schen Mäusetyphusbacillen und die Bacillen der Schweinepest nicht nur in ihrem gröberen culturellen Verhalten, sondern auch in Bezug auf ihren Receptorenbau sich äusserst nahe stehen, wenn nicht identisch sind. Wenigstens gelang es bisher nicht, durch irgend welche Reaction, ja sogar durch die Anwendung des specifischen Serums bei einer der beiden Culturen ein derartig verschiedenes Verhalten aufzufinden, die eine Trennung ermöglichte. In dieser Beziehung wurde sowohl die Wirkung des agglutinirenden wie des immunisirenden Immunserums untersucht. So konnte Smidt zeigen, dass einerseits ein agglutinirendes Mäusetyphusserum und andererseits ein agglutinirendes Schweinepestserum sich sowohl Mäusetyphus wie Schweinepest gegenüber fast vollkommen gleich verhielten. Die immunisirende Wirkung eines Schweinepestserums gegenüber der Infection mit Mäusetyphusbacillen wurde gleichfalls von Smidt an Mäusen versucht. Indessen wurde kein entscheidendes Resultat erreicht, indem das Schweinepestserum den Tod gegen Mäusetyphusbacillen nur verzögerte. Allerdings spricht für denjenigen, der die Wirkung des Immunserums gegenüber Vertretern dieser Classe von Bakterien, wie es die Mäusetyphus- und Schweinepestbacillen sind, kennt, diese den Tod der Mäuse nur verzögernde Wirkung eines Schweinepestserums gegenüber Mäusetyphusbacillen nicht gegen die Receptorengleichheit dieser beiden Bakterienarten. Denn nach vielfachen Untersuchungen, die im Verein mit Dr. Bruck ausgeführt wurden, gelingt es auch bei der Vorbehand-

[1] Eingegangen am 8. Juni 1905.



lung von Thieren mit Mäusetyphusbacillen nicht, ein Serum zu gewinnen, das eine stärker schützende Wirkung hätte, als wie dies von Smidt seitens des Schweinepestserums beschrieben wurde. Auch in diesem Falle, also wenn man Mäuse vorher mit Mäusetyphus-Immunserum vorbehandelt und nachträglich mit Mäusetyphus inficirt, entfaltet dieses Serum trotzdem nur eine den Tod verzögernde Wirkung.

Grössere Versuchsreihen darüber, inwieweit Mäusetyphus- und Schweinepestbacillen in activ immunisatorischer Hinsicht sich gleichartig verhalten, sind, soweit wir die Litteratur überblicken, bisher nicht angestellt worden. Doch fordert das gegenseitige Verhalten dieser beiden Bakterienarten direct zu solchen auf. Wir haben daher diesen Punkt einer eingehenden Untersuchung unterzogen, über deren Resultate wir in Folgendem kurz berichten wollen.

Wir können zunächst die von den oben genannten Autoren angegebene Thatsache des agglutinativ gleichmässigen Verhaltens der Schweinepest- und Mäusetyphusbacillen vollkommen bestätigen. Auch in Bezug auf die Beeinflussung seitens eines Immunserums im Thierkörper verhalten sich beide Bakterienarten gleichmässig, d. h. ein Schweinepestserum übt gegenüber Mäusetyphus ungefähr den gleichen Grad von Schutzkraft aus wie gegenüber Schweinepest, und umgekehrt ist das Gleiche der Fall. Diese Wirkung bestand, wie schon oben erwähnt, darin, dass der Tod der Thiere gleichmässig gegenüber der Infection mit beiden Bakterienarten verzögert wurde. Die zu diesen Versuchen benutzten Sera waren Mäusetyphussera, die wir uns selbst durch Vorbehandlung von Kaninchen hergestellt haben, fernerhin polyvalentes Schweinepestserum von dem Pharmaceutischen Institut Ludwig Wilhelm Gans in Frankfurt a/M., Schweinepestserum, bezogen von den Farbwerken Meister, Lucius Brüning & Co. in Höchst, und endlich ein sehr hochwerthiges, monovalentes und polyvalentes Schweinepestserum, das im hygienischen Institut der thierärztlichen Hochschule von Grabert hergestellt worden war.

Somit ist, wenn wir das Resumé aus diesen Versuchen ziehen, das gegenseitige Verhalten der Schweinepest- und der Mäusetyphusbacillen derart zu charakterisiren, dass sie sich culturell und gegenüber Immunseris vollkommen gleichartig verhalten und nur durch Virulenzunterschiede gegenüber verschiedenen Thierarten unterscheiden. So wissen wir durch die seiner Zeit in grossem Umfange angestellten Untersuchungen seitens Löffler's, Ostertags's und anderer Autoren, sowie durch vielfache Erfahrungen aus der landwirthschaftlichen Praxis, dass die Mäusetyphusbacillen als für Schweine nicht parasitär betrachtet werden können. Jedenfalls bedarf es ungemein grosser Mengen von Mäusetyphusbacillen, um ein Schwein krank zu machen oder zu tödten, währenddem wir durch die Untersuchungen von Preiss u. a. wissen, dass umgekehrt der Schweine-



pestbacillus für Schweine äusserst pathogen ist. Auch das Kaninchen ist nach unseren Untersuchungen eine Thierart, die sich den beiden Bakterienarten gegenüber verschieden verhält, indem Schweinepestbacillen für diese Thiere so pathogen sind, dass sie auch nach der Einimpfung kleinster Mengen, wenn auch nach längerer Zeit, so doch stets unter Abmagerung zu Grunde gehen, währenddem umgekehrt Kaninchen sich gegenüber Mäusetyphus weit widerstandsfähiger verhalten. Die meisten Kaninchen vertragen $^1/_{20}$ Oese (= 2 ^{mg}) frischer Agarcultur Mäusetyphusbacillen subcutan, währenddem diese Dose von virulenten Schweinepestbacillen stets tödtlich wirkt. Dieses Verhalten, wie wir es hier schildern, hat in der Bakteriologie Analoga, z. B. in der Tuberculosegruppe das Verhalten der Rinder- und Menschentuberkelbacillen. Bleiben wir bei diesem Beispiel, das wir mit unserem Falle vergleichen können, so sehen wir auch hier, dass Rinder- und Menschentuberkelbacillen sich vollkommen gleich verhalten in Bezug auf ihren Receptorenapparat gegenüber specifischen Seris, dass sie sich aber in der übergrossen Mehrzahl der Fälle unterscheiden durch ihre verschiedene Virulenz gegenüber bestimmten Thierarten. Da es sich in solchen Fällen bisher fast stets gezeigt hatte, dass ein Thier, welches die Infection mit der für seine Species wenig virulenten Bakterienart überstanden hat, nunmehr eine active Immunität gegenüber der Infection mit der stark virulenten und infectiösen Art gewinnt, so lag der Gedanke äusserst nahe, zu prüfen, ob dies auch in unserem Falle nachzuweisen ist. Mit anderen Worten, wir mussten prüfen, ob das Ueberstehen einer Infection mit Mäusetyphusbacillen Thieren eine active Immunität gegenüber der nachfolgenden Infection mit Schweinepestbacillen verleiht, i. e. dass die Mäusetyphusbacillen als Vaccin gegenüber Schweinepestbacillen verwendet werden können. Wir haben derartige Versuche an Kaninchen und Meerschweinchen ausgeführt, und es zeigte sich in der That, dass dies der Fall ist. Wir gingen in der Weise vor, dass wir Kaninchen zuerst eine nicht tödtliche Dose von Löffler'schen Mäusetyphusbacillen subcutan gaben. Es erfolgte darauf in den nächsten 5 bis 6 Tagen in der Regel eine mehr oder weniger starke Infiltration, die unter Umständen bis zur Abcessbildung gelangt. Eine Reihe von Thieren erliegt dieser Reaction unter Abmagerung, bei der Mehrzahl aber bildet sich die Infiltration wieder zurück, die Thiere erlangen ihr früheres Körpergewicht, was gewöhnlich einen Zeitraum von 10 bis 12 Tagen in Anspruch nimmt. War dies eingetreten, so erhielten diese Thiere nunmehr $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ Oese Mäusetyphusbacillen intravenös. Wenn auch diese Infection überstanden war, so wurden nunmehr diese Thiere mit Controlthieren auf ihre Immunität gegenüber Schweinepestbacillen geprüft, und es zeigte sich alsdann, dass sie die Infection mit Schweinepestbacillen dauernd überstanden, währenddem die Controlthiere



bei dieser starken Infection acut innerhalb 2 bis 5 Tagen zu Grunde gingen. Bei Meerschweinchen liessen wir auf die subcutane Injection von Mäusetyphusbacillen eine intraperitoneale folgen und erzielten auf diese Weise gleichfalls Schutz gegen eine tödtliche Schweinepestinfection. Somit ist die Thatsache, dass bei Kaninchen und Meerschweinchen Mäusetyphusbacillen ein Vaccin gegenüber den für diese Thiere so äusserst pathogenen Schweinepestbacillen sind, bewiesen. Wir prüften in dieser Hinsicht verschiedene Schweinepeststämme, im Ganzen vier, gegenüber allen konnten wir das gleiche Verhalten feststellen.

Diese hier mitgetheilte Thatsache ist nicht nur wissenschaftlich interessant, sondern sie kann unter Umständen auch praktisch wichtig werden. Denn ein sicheres und gefahrloses Schutzimpfungsverfahren gegenüber der so weit verbreiteten und nationalökonomisch so wichtigen Schweinepest besitzen wir bisher nicht. Zwar sind in der Gewinnung von Schweinepestsera insbesondere durch die schönen Arbeiten von Grabert grosse Fortschritte gemacht worden, aber trotzdem ist die Frage der praktischen Bekämpfung dieser Krankheiten mittels Immunisirung noch nicht gelöst, hauptsächlich aus dem Grunde, weil sich bei der Anwendung auch des besten Serums bisher in der Praxis dasselbe gezeigt hat wie im Laboratoriumsversuch, dass die schützende Wirkung des Serums nur eine die Krankheit verzögernde, aber keine dauernde ist.[1] Die gleichzeitige Verwendung von Schweinepestculturen zur Gewinnung eines activen Schutzes verbietet sich aber wegen der damit verbundenen Gefahren für die Impflinge. Von diesen Nachtheilen ist das hier angegebene Schutzimpfungsverfahren frei. Es erzeugt eine active, langdauernde Immunität. So hat sich ein Kaninchen das am 14./II. die Infection mit Schweinepest überstanden hat, und nach zwei Monaten zum zweiten Male von uns inficirt wurde, noch als vollkommen immun gezeigt, währenddem die Controlen starben. — Vor Allem aber handelt es sich bei den Mäusetyphusbacillen um eine Bakterienart, die seit einem Decennium bereits vielfach in der landwirthschaftlichen Praxis verwendet wird, ohne dass über Gefahren, die von derselben für nützliche Hausthiere oder für Menschen etwas berichtet worden wäre.[2]

[1] Auf die in neuester Zeit von Dorset, Bolton und Mc. Bryde veröffentlichte Arbeit, betreffend die Aetiologie der Hogcholera (U. S. Dptmt. of Agric. Bur. of Animal Ind. 1905) wollen wir hier nicht näher eingehen, da die Gültigkeit der hochwichtigen Befunde dieser Autoren für die in Europa herrschende Schweinepest erst noch festgestellt werden muss.

[2] Wenn auch Tromsdorff über einen Fall berichtet, in dem bei einem Landmann, der mit grossen Mengen von Mäusetyphusculturen in der landwirthschaftlichen Praxis arbeitete, Mäusetyphusbacillen im Stuhlgang gefunden wurden, so sind derartige vereinzelte Fälle nicht zu verwundern. Erstlich kennen wir derartige einzelne



Für die Praxis muss das Verfahren allerdings noch weiter ausgebildet werden, sei es, dass die Culturen durch Züchtung bei höheren Graden oder durch andere Maassnahmen, mit denen wir beschäftigt sind, noch weiter abgeschwächt werden, vor Allem aber in der Hinsicht, dass neben den Mäusetyphusbacillen, die nur den Zweck haben, die dauernd active Immunität gegenüber Schweinepest hervorzurufen, gleichzeitig Schweinepestserum gegeben wird. Diese Simultanmethode verfolgt den doppelten Zweck, erstlich dem Thiere während der Zeit, bis in Folge der gleichzeitigen Einspritzung der Mäusetyphusbacillen seine active Immunität eintritt, eine Periode, innerhalb deren es für die Infection mit Schweinepest sogar stärker empfindlich ist als ein normales (negative Phase), einen Schutz zu geben; zweitens, um durch diese simultane Einspritzung von Serum die Infection mit Mäusetyphusbacillen in Schranken zu halten. An Kaninchen hat uns bisher diese Simultanmethode äusserst befriedigende Resultate gegeben. Wir würden bei dieser Combination die vorübergehende Schutzwirkung des Schweinepestserums ausnützen, und es würde alsdann, wenn die Wirkung des Schweinepestserums aufhört, der langdauernde active vaccinirende Schutz seitens der Mäusetyphusbacillen eintreten. Zunächst sind wir damit beschäftigt, inwieweit die hier mitgetheilten, im Laboratorium an Kaninchen gewonnenen Resultate überhaupt auf Schweine übertragen werden können.

Aus den Arbeiten von Bonhoff, Theobald Smith und Smidt ist es bekannt, dass nicht nur Mäusetyphus und Schweinepest, sondern auch der Schottmüller'sche Paratyphusbacillus B. sich in Bezug auf Agglutination und Serumwirkung identisch verhalten. Es ist also nicht nur nicht unmöglich, sondern sogar wahrscheinlich, dass eventuell auch der Paratyphusbacillus und andere zu dieser Gruppe von Bakterien gehörige Vertreter sich gegenüber Schweinepest in der Verleihung von activer Immunität ähnlich verhalten, wie wir dies soeben vom Mäusetyphusbacillus beschrieben haben. Wir sind darauf nicht näher eingegangen, weil sich die Anwendung des Paratyphusbacillus oder anderer für den Menschen pathogener Mikroorganismen in der landwirthschaftlichen Praxis zu Schutzimpfungszwecken wegen der damit verbundenen Gefahren von selbst verbieten würde.

Fälle auch von anderen thierischen Bakterien, z. B. den Schweinerothlaufbacillen, die seit Jahr und Tag in grösster Menge ohne Gefahren für den Menschen in der landwirthschaftlichen Praxis zu Impfzwecken verwendet werden, und andererseits handelt es sich bei den Culturmengen von Mäusetyphusbacillen, die zur Tödtung der Mäuse bereitet und in die Mäuselöcher gegossen werden, wobei die mit den Mäusetyphusculturen getränkten Brotstücke direct mit den Händen berührt werden, um solche Massen, wie sie bei einer Injection zu Schutzimpfungszwecken niemals in Frage kommen können. Ob es sich übrigens bei diesem Falle von Tromsdorff nicht um einen Fall von Paratyphus gehandelt hat (s. u.), ist uns noch fraglich.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. G. Gaffky.)

Ueber Paratyphus und den Werth der Immunitätsreactionen für die Erkennung des Paratyphusbacillus.

Von

Prof. Dr. **W. Kolle,**
Abtheilungsvorsteher am Institut.

Nachdem durch die grundlegenden Untersuchungen von Gaffky die Lebenseigenschaften des Typhusbacillus bekannt geworden waren, sind sehr bald die Untersuchungen der Bakteriologen darauf gerichtet worden, weitere Methoden zur Unterscheidung des Eberth-Gaffky'schen Bacillus von den ihm ähnlichen, im Darm und ausserhalb desselben vorkommenden Bakterien zu finden. Bei diesen Untersuchungen stellte sich sehr bald heraus, dass es verschiedene, dem Typhusbacillus ausserordentlich ähnliche Bakterienarten giebt. Als dann später die Bestrebungen dahin gingen, die Diagnostik des Abdominaltyphus durch den Nachweis des Typhusbacillus, sei es aus Fäcesproben, sei es aus Blut, mittels Züchtung, sowie mit Hülfe der Untersuchung des Blutes nach dem Vorgange Widal's auf Agglutinine, auf eine sichere Basis zu stellen, ergaben sich weitere Schwierigkeiten, die für die ätiologische Abgrenzung des Abdominaltyphus von gewissen, ihm klinisch ähnlichen Erkrankungen von grosser Bedeutung wurden. Man beobachtete nämlich Krankheitsformen, welche klinisch unter dem Bilde des Abdominaltyphus verliefen, bei denen aber weder der Typhusbacillus nachgewiesen werden konnte, noch im Blute sich die für Typhus specifischen Veränderungen, bestehend in Agglutinationsfähigkeit gegenüber dem Typhusbacillus, zeigten. Nicht nur vereinzelt kamen solche Krankheitsfälle vor, sondern auch bei grösseren



Epidemieen, deren ganzer Charakter derjenige wie von Typhus-Epidemieen war, vermisste man bei einer grossen Anzahl daraufhin untersuchter Krankheitsfälle den Eberth-Gaffky'schen Bacillus. Es ist zuerst Gärtner gewesen, der bei derartigen Erkrankungen, die häufig mit dem Genuss von Fleisch, namentlich von rohem Fleisch, in Verbindung standen, ein Bacterium als Erreger nachgewiesen hat, welches dem Typhusbacillus zwar ähnlich, aber doch culturell von ihm zu trennen ist. Ein Wendepunkt in der ganzen Frage ist durch die grundlegenden Untersuchungen von Kurth und Schottmüller eingetreten, welche die von amerikanischen und französischen Forschern vereinzelt erhobenen Befunde an einem grösseren Material scharf abgrenzten und präcisirten. Diese Autoren wiesen durch genaue Untersuchungen nach, dass bei einer ganzen Anzahl von Krankheitsfällen, welche klinisch unter dem Bilde des Abdominaltyphus verliefen, nicht der Eberth-Gaffky'sche Bacillus, sondern ein von diesem verschiedener Bacillus als Erreger angesprochen werden musste. Der Bacillus wurde als Paratyphusbacillus bezeichnet und die Krankheit als Paratyphus.

Im Laufe der Jahre ist die Zahl der Bakterien, welche angeblich typhusähnliche Erkrankungen hervorrufen sollen, ausserordentlich vermehrt worden. Es sind verschiedene Typen des Paratyphusbacillus aufgestellt worden, Paratyphus Typus A und Typus B. Ferner ist eine ganze Anzahl von Bacillen, welche dem Bacterium enteritidis Gärtner mehr oder weniger ähnlich sind, beschrieben worden. Durch diese zahlreichen Funde von Bakterien, welche von den Autoren als die Erreger der Krankheit, bei der sie gefunden wurden, proclamirt worden sind, ist eine gewisse Unsicherheit, um nicht zu sagen, Verwirrung in die ganze Frage des Typhus und der typhusähnlichen Erkrankungen getragen worden. Denn zunächst verliert man den Ueberblick über die Stellung der einzelnen Bakterien im Bakteriensystem, ihre Eigenschaften und ihre Beziehungen unter einander. Diejenigen, welche an einer Specifität der Bakterien und der zugehörigen Erkrankungen festhalten, müssen logischer Weise zur Aufstellung vieler verschiedener Krankheiten kommen. Wir hätten dann neben dem echten Typhus die Paratyphus A-Erkrankung, die Paratyphus B-Erkrankung, ferner eine Enteritiserkrankung Gruppe A (van Ermenghem-de Nobele), Enteritiserkrankung Gruppe B (v. Ermenghem-de Nobele) und noch zahlreiche Krankheiten, welche durch diesen ähnliche, aber von ihnen zu trennende Bakterien hervorgerufen werden sollen. Es sprechen aber für die Berechtigung einer derartigen Trennung in zahlreiche Krankheiten, die mit verschiedenen Namen belegt werden, gar nicht die bisher mit anderen specifischen Infectionskrankheiten gemachten Erfahrungen. Es sei hier nur an die Specificität des Choleravibrio einer-

seits und das Vorkommen von choleraähnlichen Vibrionen erinnert. Wenn also a priori eine so weitgehende Trennung und Annahme verschiedenster ätiologisch von einander zu trennender Krankheitsformen nicht gerechtfertigt erscheint, so wäre es umgekehrt falsch, alle diejenigen Krankheiten zusammenzuwerfen, welche z. B. durch den Typhusbacillus, Paratyphusbacillus, Enteritisbacillus hervorgerufen werden. Hier ist namentlich Jürgens zu nennen, der dafür plaidirt hat, den Paratyphus und Typhus zusammenzufassen, weil sich beide Krankheitsformen klinisch häufig nicht trennen lassen. Es liegt bei einem solchen Verfahren eine Frage von principieller Bedeutung vor. Denn da der Typhusbacillus und Paratyphusbacillus scharf von einander bakteriologisch zu trennende Bakterien sind, so würde das Gebäude der ätiologischen Specificität, das mit so vielen Mühen und zum grossen Vortheil unserer ganzen ätiologischen Auffassung und Forschung errichtet ist, doch ohne Grund durch die klinische Identficirung ätiologisch differenter Krankheiten erschüttert werden. Man wirft auch sonst in der Medicin Krankheiten nicht zusammen, die durch einander ähnliche oder im System sehr nahestehende Bakterien hervorgerufen werden, z. B. die Bakterien aus der Gruppe der säurefesten. Es hat bisher noch kein Forscher den Versuch gemacht, Lepra und Tuberculose als eine Krankheit zusammenzufassen, obwohl diese Bakterien im System sich wohl mindestens so nahe stehen wie der Paratyphusbacillus dem Typhusbacillus. Im Gegentheil zielt die Forschung es darauf ab, und zwar mit Recht, Unterschiede zwischen einander ähnlichen Krankheiten, z. B. der menschlichen und thierischen Tuberculose auch da aufrecht zu erhalten, wo die zugehörigen Bakterien Unterschiede aufweisen.

Aus diesem Grunde war es nothwendig, Beziehungen zwischen Paratyphus, Typhus und den anderen nahestehenden Krankheiten vom bakteriologischen Standpunkt aus, d. h. durch ein Studium der Erreger dieser Erkrankungen, einer erneuten Prüfung zu unterwerfen. Vom ätiologischen Gesichtspunkte ausgehend, mussten die Erreger der verschiedenen Krankheiten unter einander verglichen und genau nach allen Richtungen untersucht werden. Die bezüglichen Untersuchungen sind unter meiner Leitung von den Herren Stabsarzt Dr. Kutscher und Dr. Meinicke ausgeführt worden. Ferner haben sich die Herren Dr. Besserer und Dr. Jaffé an den vergleichenden Studien betheiligt. Die Einzelergebnisse der Untersuchungen, die nach einem von mir entworfenen Plane unter ganz bestimmten Gesichtspunkten ausgeführt sind, werden in den folgenden Arbeiten von den genannten Autoren auseinandergesetzt und ausführlich begründet werden. Wie nothwendig es war, systematisch diese Frage zu bearbeiten, geht u. A. aus einer Arbeit hervor, welche neuerdings, allerdings nach Abschluss der folgenden Arbeiten



und während der Niederschrift dieser Zeilen erschienen ist („Ueber gattungsspecifische Immunitätsreaction“ von Zupnik). Zupnik stellt in dieser Arbeit die Behauptung auf, dass die Agglutination keine specifische, d. h. auf eine Art wirkende Reaction ist, sondern nur eine Gattungsreaction. Auf Grund der von ihm selbst und anderen Autoren ausgeführten Agglutinationsversuche, sowie unter Berücksichtigung gewisser cultureller Merkmale kommt Zupnik zur Aufstellung von fünf Gattungen. Für die vorliegenden Zwecke interessiren wesentlich die Bakterien, welche er in die erste, die von ihm als Typhusgattung bezeichnete Gruppe von Bakterien aufgenommen hat. Er nimmt nicht nur Dysenteriebacillen, sondern auch die Paratyphusbakterien, Fleischvergiftungsbakterien der verschiedensten Provenienz, den Bacillus suipestifer und noch verschiedene ganz heterogene Bakterien zusammen und identificirt diese Bakterien auf Grund nicht specifischer und specifischer Gattungsmerkmale. Abgesehen von den Widersprüchen, welche in diesen Worten durch Zusammenfassung von Species und Gattung liegen, ist es unmöglich, dem Autor auf diesem Wege zu folgen. Denn weder in der Trennung der nicht specifischen noch der specifischen Merkmale lässt sich eine rationelle Systematisirung erkennen, und schon der Umstand, dass auf Grund bestimmter Eigenschaften Typhusbakterien, Paratyphusbacillen und Dysenterieerreger in eine Gattung und in Bezug z. B. auf ihr Verhalten zur Agglutination, Präcipitation und auf ihre pathogenen Eigenschaften bei Menschen und Thieren als gattungsähnlich bezeichnet wurden, beweist, dass Zupnik nicht nur seine eigenen Befunde unrichtig gedeutet, sondern auch die Arbeiten anderer Autoren nicht völlig verstanden hat. Das geht z. B. daraus hervor, dass er Arbeiten von Pfeiffer und mir über die Vibrionenagglutination und die später von Gotschlich, Hetsch, Lentz, Otto und mir über den gleichen Gegenstand veröffentlichten Arbeiten als widersprechend bezeichnet. Eine geringe Mitagglutination von choleraähnlichen Vibrionen durch ein hochwerthiges Choleraserum, auf welche Pfeiffer und ich bei unseren ersten Untersuchungen über die Agglutination der Vibrionen hingewiesen hatten, führt er in's Feld gegen die Agglutinationsversuche von Gotschlich und mir. In diesen Untersuchungen hatten Gotschlich und ich zusammen mit Hetsch, Lentz und Otto den Nachweis erbracht, dass die Agglutination ein ausserordentlich wichtiges und praktisch brauchbares Merkmal ist, um den Choleravibrio von den choleraähnlichen zu unterscheiden, und dass die Agglutination in der Vibrionengruppe eine ausserordentlich streng specifische ist, so dass sie zur Artunterscheidung der genannten Bakterien benutzt werden kann. Sie ermöglicht, eine Systematik der Vibrionen aufzustellen. Diese Untersuchungen von Gotschlich und mir sind in ausserordentlich zahl-



reichen Versuchen seitdem häufig wiederholt worden und auch durch die unten veröffentlichten Arbeiten von Meinicke, Jaffé und Flemming durchaus bestätigt. Bei den zahlreichen Untersuchungen hat sich gelegentlich eine geringe Mitagglutination gezeigt, die wohl den Schluss erlaubt auf eine Artverwandtschaft verschiedener Bakterien, aber keineswegs damit eine Gattungszugehörigkeit bezeichnet. Auch die in der folgenden Arbeit veröffentlichten Untersuchungen von Kutscher, Lentz und Meinicke zeigen, dass Mitagglutinationen zwischen ganz differenten Bakterien vorkommen können, und dass es trotzdem möglich ist, mittels hochwerthig agglutinirender Sera eine Trennung verschiedener Bakterienarten und selbst solcher, die durch andere Merkmale kaum zu unterscheiden sind, durchzuführen.

Arbeiten, wie die Zupnik'sche, zeigen allerdings, dass es gerade bei diesen Untersuchungen, worauf ich schon seit Langem hingewiesen habe, nothwendig ist, eine sichere Methodik zu beobachten. Die Zupnik'sche Methodik, die Agglutination anzustellen mit Bouillonculturen, und die Art, wie er die Einheiten berechnet, sind aber wenig einwandsfrei und müssen direct zu falschen Ergebnissen führen. Zudem kommt, dass in zahlreichen Fällen die Serumproben von Kranken und Reconvalescenten in Bezug auf ihre Agglutinationswirkungen gegenüber verschiedenen Bakterien geprüft wurden. Wir wissen aber, dass die Serumproben von Kranken (Typhus-, Paratyphus-, Dysenteriekranken) ausserordentlich wenig geeignet sind zu derartigen differential-diagnostischen Untersuchungen. Denn es kommen hier Mitagglutinationen vor, die sich mittels der Ehrlich'schen Theorie wohl erklären lassen und z. B. von Wassermann auch näher experimentell belegt sind. Es soll Zupnik ohne Weiteres zugegeben werden, dass es ungerechtfertigt ist, allein in Bezug auf die Agglutination weitgehende Schlüsse bezüglich der Zugehörigkeit einer Bakterienart zu einer anderen aufzustellen. Deshalb sind z. B. bei den Untersuchungen auf Vibrionen von uns auch stets die Bakteriolysine zur Differenzirung herangezogen, und es ist in den Arbeiten in weitgehendstem Umfange durch Herstellung von Serumproben mit verschiedenen Cholerastämmen und Culturen choleraähnlicher Vibrionen von uns das Gebäude der Specifität erhärtet worden. Culturen, die sich z. B. nicht als Choleraculturen auf Grund ihrer biologischen Merkmale einschliesslich Agglutination herausgestellt hatten, lieferten nie ein Serum, welches Wirkung zeigte auf authentische Cholerastämme. Aus eben diesem Grunde wäre es aber besser gewesen, wenn Zupnik weitgehende Schlüsse aus seinen Agglutinationsversuchen nicht eher gezogen hätte, bevor er durch active Immunisirungsversuche, Heranziehung der Bakteriolysine und Benutzung einer einwandsfreien Agglutinationstechnik den Zirkel seiner Beweisführung völlig geschlossen hätte.



Bei den folgenden Untersuchungen sind nicht nur die culturellen und biologischen Merkmale nach allen Richtungen untersucht, sondern es sind auch mit Hülfe der verschiedenen Immunitätsreactionen (Agglutination, active Immunisirung, Bakteriolysine und Prüfung der Culturen gegenüber verschiedenen Serumproben) Anhaltspunkte dafür gewonnen, wie weit sich die verschiedenen hierher gehörigen Arten von Bakterien in eine Gruppe zusammenfassen lassen. Daneben sind auch die pathogenen Eigenschaften der verschiedenen Bakterienculturen nicht nur an Meerschweinchen, sondern auch an Mäusen und zum Theil an grösseren Thieren studirt worden.

Bakterien, die eine Rolle als Erreger specifischer Infectionskrankheiten spielen, namentlich solcher, die epidemiologisch bei uns von Bedeutung sind oder überhaupt häufiger zur Beobachtung kommen und deshalb als Krankheitsformen sui generis betrachtet werden können, müssen — das war a priori anzunehmen — constante culturelle und biologische Merkmale aufweisen und auch ein gesetzmässiges Verhalten gegenüber den Immunitätsreactionen zeigen. Von diesen Gesichtspunkten aus wurden zunächst die Bakterien der Paratyphusgruppe einer genaueren Untersuchung unterworfen. Es wurden im Ganzen 106 Stämme verschiedenster Provenienz untersucht und zwar 64 als Paratyphusculturen bezeichnete Stämme. Dieselben stammten theils von Kranken, theils von Reconvalescenten, theils von sogen. Dauerausscheidern, d. h. von Leuten, die vor längerer Zeit Paratyphus durchgemacht hatten. Es wurden Culturen verwandt, die aus schweren Fällen und sogar aus tödtlichen Paratyphusfällen isolirt waren. Auch aus Blut isolirte Culturen standen zur Verfügung. Wir verdanken die meisten dieser Culturen Hrn. Dr. Lentz in Idar a/Nahe. Ueber die Personen, bei denen diese Culturen gewonnen sind, liegen genaue Angaben von Hrn. Dr. Lentz vor. Daneben wurden uns Culturen zur Verfügung gestellt von Hrn. Dr. Conradi in Trier und gleichfalls eine Anzahl von Hrn. Stabsarzt Dr. v. Drygalski. Wir sind den genannten Herren für die Ueberlassung des Materials zu grossem Dank verpflichtet. Ausser diesen 64 als echte Paratyphusculturen bezeichneten Stämmen wurden 22 paratyphusähnliche Culturen zur Untersuchung herangezogen, 4 Mäusetyphusculturen und 17 von den Herren Prof. Flügge, sowie Prof. van Ermenghem überlassene Culturen, welche uns als Bac. enteritidis bezeichnet waren. Es standen also nicht nur Culturen aus Deutschland, sondern auch aus dem Auslande zur Verfügung. Zur Ergänzung dieser Untersuchungen dienten die Verarbeitungen des Materials an Typhusculturen, welches auf verschiedenen Typhusstationen im Westen des Reiches gewonnen war. Die Mehrzahl der als Typhus oder typhusähnlich isolirten Culturen wurde uns wieder von Hrn. Dr. Lentz zugesandt; daneben erhielten wir auch Material von den Herren Prof. Frosch, Dr. Conradi



und Dr. v. Drygalski. Die Verarbeitung dieses von Typhuskranken oder von Personen, welche Typhus überstanden hatten oder mit Typhuskranken in Berührung gekommen waren („Bacillenträgern"), gewonnenen Materials wurde in gleicher Weise durchgeführt, wie oben beschrieben. Es sollten so nicht nur die Beziehungen der Bakterien, welche dem Paratyphus mehr ähnlich sind, unter einander geklärt werden, sondern auch die Beziehungen der Typhusbacillen und typhusähnlichen Bakterien zur Gruppe der Paratyphusbakterien, des Bac. enteritidis und der paratyphusähnlichen Bakterien.

Wenn ich im Einzelnen die in den folgenden Arbeiten niedergelegten Untersuchungen überblicke, so haben sich die Erwartungen, gewisse Gruppen oder Arten von Bakterien aus den zum Theil mit heterogenen Namen beschriebenen Bakterien herauszuschälen, vollauf bestätigt. Es lassen sich zwei grosse Bakterienarten unterscheiden, die Art des echten Typhusbacillus Eberth-Gaffky und diejenige des Paratyphusbacillus Typus B (Kurth-Schottmüller) mit der Unterart Bac. enteritidis Gärtner. Der Typus A des Paratyphusbacillus kommt als verbreiteter Krankheitserreger nicht in Frage. Sein Vorkommen ist eine Rarität, und seine ätiologische Bedeutung noch nicht bewiesen. Diese beiden Bakterien spielen als Krankheitserreger der infectiösen Krankheiten, die unter dem Namen des Typhus und Paratyphus bekannt sind, nicht nur in Deutschland, sondern auch allgemein eine grosse Rolle. Es ist eine Zeit lang angezweifelt worden, ob der Paratyphusbacillus als Krankheitserreger sui generis überhaupt in Frage käme. Es wurde von manchen Seiten die Möglichkeit hingestellt, dass es sich hier um einen Mischinfectionsprocess handle, und die hohen Mitagglutinationswerthe für den Paratyphusbacillus, welche häufig mit dem Serum von Typhuskranken erhalten werden, schienen diese Vermuthung zu bestätigen. Nun hat sich aber bei weiterem bakteriologischen Studium dieser Frage herausgestellt, dass der Paratyphus thatsächlich eine in manchen Theilen Deutschlands ziemlich weit verbreitete Krankheit sui generis ist. Dass diese Erkenntniss verhältnissmässig rasch gewonnen worden ist, ist wohl nicht zum Wenigsten der systematischen Arbeit an den Typhus- und typhusverdächtigen Krankheitsfällen zu verdanken, die seit Durchführung der Koch'schen Typhusbekämpfung möglich geworden ist. Gerade der Einrichtung der Typhusstationen im Westen unseres Reiches, durch welche ein ziemlich genaues Bild der Verbreitung des Typhus und des Paratyphus gewonnen wird, ist es auch zu verdanken, dass die folgenden Untersuchungen, die wohl wesentlich zur weiteren Klärung der Frage beitragen dürften, möglich geworden sind. Es ist Robert Koch zu danken, dass er für Einrichtung dieser Stationen eingetreten ist.



Der Name Paratyphus ist ein ausserordentlich unglücklich gewählter. Es wird dadurch der Anschein erweckt, als ob es sich gewissermaassen um eine Abart des echten Typhus handelte, obwohl wir es doch mit einer nicht nur vom bakteriologisch-ätiologischen Standpunkte vom Typhus zu trennenden Krankheit zu thun haben. Die klinischen Erscheinungen, der Verlauf, die pathologisch-anatomischen Veränderungen und die Mortalität des Typhus (5 bis 10 Procent) sollen als bekannt vorausgesetzt werden. Es mag aber im Gegensatz dazu darauf hingewiesen werden, dass der Paratyphus sich überall, wo er beobachtet ist, als die leichtere Infectionskrankheit gezeigt hat, namentlich ist die Mortalität ausserordentlich viel geringer. Damit ist nicht gesagt, dass nicht auch schwere und tödtliche Erkrankungen an Paratyphus vorkommen, und dass es Epidemieen mit viel Todesfällen geben kann. Während bei den meisten echten Typhuserkrankungen jede Agglutinationswirkung des Blutes der Kranken auf Paratyphusbacillen fehlt, besitzt das Blut der an Paratyphus Erkrankten meist hohe Agglutinationswerthe auf Paratyphusbacillen. Genau wie die Typhusbacillen ausserordentlich leicht bei Typhuskranken aus dem Blute zu züchten sind, findet man auch Paratyphusbacillen in einem verhältnissmässig hohen Procentsatz im Blut der an Paratyphus Erkrankten. Gegen die Annahme, dass der Paratyphus eine Mischinfection wäre, spricht vor allen Dingen das Vorkommen von richtigen Paratyphusepidemieen, wie sie z. B. von Fischer, v. Drigalski, Hühnermann u. A. beschrieben worden sind. Es gelang, bei zahlreichen Individuen die Paratyphusbacillen nicht nur aus den Fäces, in denen sie zum Theil in Reincultur enthalten waren, zu isoliren, sondern auch aus dem Blut, und das Blutserum der Kranken zeigte ausgesprochene hohe Agglutinationswirkung gegenüber dem Paratyphusbacillus, während sie gegenüber den Eberth-Gaffky'schen Bakterien fehlte. Es ist wichtig, darauf hinzuweisen, dass der Paratyphus keineswegs überall verbreitet vorkommt. Es giebt Gegenden in Deutschland, in denen es bisher noch nicht gelungen ist, den Paratyphus nachzuweisen. Die Ursachen für die Unterschiede, welche der Paratyphus in Bezug auf Mortalität, klinisches Verhalten (im Allgemeinen leichtere Erkrankungen) und seine Verbreitung, die keineswegs so gleichmässig wie die des Typhus in Deutschland ist, zeigt, sind dadurch zu erklären, dass der Erreger des Paratyphus ein scharf bakteriologisch von dem Eberth-Gaffky-Bacillus zu trennendes Bacterium ist. Es ist auch aus diesem Grunde nicht gerechtfertigt, den Typhus und Paratyphus, wie das von Jürgens geschehen ist, weil klinisch gewisse gemeinsame Symptome bei beiden Krankheiten bestehen, zusammenzufassen. Als eine Unterart des Paratyphus müssen diejenigen als Bacillus enteritidis bezeichneten Bakterien betrachtet werden, welche



vom Paratyphusserum nicht agglutinirt werden. Man könnte dieses Bacterium vielleicht mit dem Paratyphusbacillus identificiren, denn die wichtigsten morphologischen und culturellen Merkmale [starke Beweglichkeit, Wachsthum auf Lackmus-Milchzucker-Agarplatten, Fluorescenz und Gasbildung in Neutralrothagar, Wachsthum in Lackmusmolke (Umschlag in intensives Blau), Wachsthum in Milch (nicht Gerinnung erzeugend und starke Alkalibildung) und auch bis zu einem gewissen Grade die Thierpathogenität] stimmen bei dem echten Bac. enterit. Gärtner und den Bakterien, welche als solche an den verschiedensten Stellen isolirt sind (vgl. van Ermenghem über Fleischvergiftungsbakterien im Handbuch für pathogene Mikroorganismen) mit dem echten Paratyphusbacillus überein. Trotzdem wird es sich empfehlen, die Gruppe des Bac. enteritid. Gärtner, soweit sie nicht vom Paratyphusserum agglutinirt, und im Thierversuch specifisch beeinflusst wurden und sich dadurch als echte Paratyphusculturen gekennzeichnet haben, als eine Unterart des Paratyphusbacillus abzugrenzen. Die Mehrzahl dieser Bakterien, die als Erreger infectiöser Darmkrankheiten meist in Folge Genusses von Fleisch nothgeschlachteter Thiere beschrieben sind, besitzen erheblich toxischere Effecte für Menschen und Thiere als die echten Paratyphusbakterien. Klinisch drückt sich diese grössere Toxicität des Erregers in einem stürmischeren Verlaufe der Krankheit und toxischen Symptomen (Lähmungen) aus. Es würde schliesslich auch mit einer vernünftigen Systematisirung vereinbar sein, wenn man neben der Art des Eberth-Gaffky'schen Bacillus, des Erregers des Abdominaltyphus, und dem Paratyphusbacillus, dem Erreger der Paratyphuskrankheit, die Enteritisbakterien als selbstständige Art bestehen liesse; der Einfachheit wegen lassen sie sich aber, namentlich wegen der Identität der morphologischen und biologischen Eigenschaften mit dem echten Paratyphusbacillus als Unterart des Paratyphus am besten in das System einreihen. Ein Theil der als Enteritisbakterien geführten Culturen sind allerdings keine zur Enteritisart gehörenden, d. h. für Kaninchen sehr toxischen Bakterien, sondern echte Paratyphusbacillen.

Diese Eintheilung der genannten Bakterien, die das Gemeinsame haben, vom Darm ausgehend (Follikel), Infectionskrankheiten mit klinisch bis zu einem gewissen Grade gemeinsamen Merkmalen (Symptome des leichten und schweren Typhus) hervorzurufen, in diese zwei bezw. drei Arten ist, wie aus den folgenden Arbeiten hervorgeht, auf Grund morphologischer, cultureller und biologischer Merkmale (Immunitätsreactionen) geschehen.

Die systematischen Agglutinationsprüfungen von Kutscher und Meinicke haben gezeigt, dass von einem hochwerthigen Paratyphusserum,

mag dasselbe nun mit einem Stamm (monovalent) oder mit mehreren Culturen (polyvalent) hergestellt sein, sämmtliche Paratyphusculturen darunter nicht nur die aus den verschiedensten Theilen Deutschlands, sondern auch aus dem Ausland erhaltenen, bis fast zur Titregrenze agglutinirt wurden. Der Receptorenapparat der Paratyphusbacillen also erscheint einem hochwerthigen Serum gegenüber als ein ausserordentlich einheitlicher.

Die Paratyphusbacillen enthalten sehr wenige Receptoren, die auch von den Agglutininen des hochwerthigen Typhusserums (polyvalenten oder monovalenten) beeinflusst würden. Zahlreiche Untersuchungen mit den verschiedensten Proben von agglutinirendem Typhusserum vom Titre 1:5000 bis 10 000, sowie mit einer Anzahl von Kaninchensera, theils monovalenten theils polyvalenten, haben stets das eindeutige Resultat ergeben, dass eine Mitagglutination der Paratyphusbacillen durch Typhusserum höchstens bis zur Verdünnung 1:200 stattfand. Eine etwas stärkere Wirkung als normales Kaninchen- oder Pferdeserum hat jedes hochwerthig agglutinirende Typhus- oder Kaninchenserum allerdings gegenüber den meisten Culturen. Aber die Mitagglutination ist so gering, dass sie praktisch bei der Differenzirung und Identificirung von Culturen dieser Bakteriengruppe keine Rolle spielt. Es ist mir unverständlich, wie einzelne Autoren immer wieder die Behauptung aufstellen, bei den Typhus-, Paratyphus- und Enteritisbakterien bestände eine so weit gehende Gemeinschaftlichkeit des Receptorenapparates, dass eine sichere Differenzirung derselben mittels der Agglutination nicht möglich wäre.

Gerade bei den echten Paratyphusbakterien besitzen wir in der Agglutination ein zuverlässiges Differenzirungsmittel. Denn wie kaum bei einer anderen Bakterienart verläuft die Reaction bei Benutzung hochwerthigen Serums hier durchaus regelmässig. Es giebt weder schwer agglutinable Culturen, wie bei Typhusculturen beobachtet ist, noch spielen die sogen. Gruppenreactionen eine Rolle.

Die Resultate der Agglutination stehen durchaus in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen activer Immunisirungsversuche, die an Meerschweinchen gewonnen sind. Durch subcutane Vorbehandlung zunächst mit abgetödteten, dann lebenden Paratyphusbacillen gelingt es, Meerschweinchen gegen das Vielfache (100- bis 1000 fache der tödtlichen Dosis bei intraperitonealer Einverleibung) zu immunisiren. Die Prüfung auf Immunität der so immunisirten Thiere wird frühestens 1 Monat nach der letzten Immunisirungsdosis vorgenommen. Die mit Paratyphusbakterien vorbehandelten Thiere besitzen keine Immunität gegenüber der Infection mit Typhusbakterien oder Bact. coli und einen Theil derjenigen Bacillen, die unter dem Namen des Bact. enteritidis Gärtner geführt, aber von Paratyphusserum nicht agglutinirt werden (Gruppe II). Da-



gegen besteht eine wechselseitige Immunität zwischen den mit Paratyphus-, Mäusetyphus- und denjenigen Enteritisbacillen (Gruppe I), welche von Paratyphusserum agglutinirt werden.

Der Zirkel der Beweisführung für die Zusammengehörigkeit der Bakterien, welche specifisch von Paratyphusserum agglutinirt werden, zu einer Species wird geschlossen durch den Umstand, dass eine völlige Uebereinstimmung besteht zwischen:

1. Agglutinationsversuchen,

2. Prüfungen activ mit den verschiedenen Bakterien immunisirter Thiere,

3. Prüfung der mit Paratyphus, Mäusetyphus und Bac. enteritidis (Gruppe I) hergestellten Sera auf Bakteriolysine und Schutzkraft im Thierversuch.

Wie die hochwerthig agglutinirenden Sera, hergestellt mit Paratyphus, Mäusetyphus und Bac. enteritidis (Gruppe I), die drei genannten Bakterienarten ganz gleichartig wechselseitig beeinflussen, so sind auch die entsprechenden bakteriolytischen Sera in der Anordnung des Pfeiffer'schen Versuchs durchaus gleich in ihrer Wirkung. Das Paratyphusserum bringt bis zur Grenzdosis sämmtliche untersuchten Paratyphus-, Mäusetyphus-, sowie diejenigen Enteritisculturen, die sich auf Grund der Agglutination und der activen Immunisirung als echte Paratyphusculturen erwiesen haben, zur Auflösung im Meerschweinchenperitoneum. Das Pfeiffer'sche Phänomen tritt besonders rasch und typisch bei den untersuchten Culturen ein. Aehnlich wie bei der Agglutination bestehen auch bei der Prüfung mit Bakteriolysinen Unterschiede zwischen den verschiedenen Stämmen insofern, als einzelne Culturen durch ein und dasselbe Serum stärker als andere beeinflusst werden. Diese Unterschiede gehen aber offenbar nicht parallel der Virulenz der Stämme. Mäusetyphusserum verhält sich genau wie Paratyphusserum. Das hochwerthige Paratyphusserum hat auf die Typhusstämme, von denen eine ganze Anzahl in der Anordnung des Pfeiffer'schen Versuchs geprüft wurden, nur eine geringe Wirkung, wie umgekehrt das Typhusserum nur eine geringe Wirksamkeit auf Paratyphus, Mäusetyphus oder die zu den Paratyphusbacillen gehörigen, unter dem Namen Bacillus enteritidis Gärtner beschriebenen Bakterienarten. Die Mitbeeinflussung im Pfeiffer'schen Versuch entspricht derjenigen in der Mitagglutination.

Im Gegensatz zu der Gleichmässigkeit, mit der das Paratyphusserum agglutinirend und bactericid auf alle diejenigen Stämme wirkt, die es überhaupt beeinflusst, wirkt das Typhusserum viel ungleichmässiger auf die Typhusculturen ein. Ein hochwerthiges Typhusserum vom Titre 1:10000 beeinflusste z. B. von 20 Stämmen 5 Stämme bis annähernd



zur Titregrenze 1:8000 bis 1:10 000, 10 Stämme bis 1:2000 bis 1:3000, 5 Stämme aber nur bis 1:500 bis 1:1000. Diese (meist handelt es sich um frisch aus dem Menschen gezüchtete Culturen) agglutinin-resistenten oder wie man sich auch ausdrücken kann, schwer agglutinabelen Stämme machen bei differential-diagnostischer Verwerthung der Agglutinationsprobe grosse Schwierigkeit. Auch durch die Herstellung von agglutinirendem Typhusserum mit möglichst zahlreichen Stämmen (leicht und schwer agglutinabelen) lassen sich diese Schwierigkeiten nicht überwinden. Das polyvalente Typhusserum verhält sich genau so wie das monovalente. Worauf die Agglutininresistenz mancher Typhusculturen beruht, ist bis jetzt noch nicht geklärt. Der Mangel an Receptoren kann es nicht sein. Denn man beobachtet häufig, dass schwer agglutinabele Stämme durch Fortzüchtung auf Nährböden gut agglutinabel werden. Auch mit der Virulenz steht die Erscheinung offenbar in keinem Zusammenhang.

Die geringere Einheitlichkeit des Receptorenapparates der Eberth-Gaffky'schen Bacillen, verglichen mit demjenigen der Paratyphusbacillen, zeigt sich auch bei der Agglutination der Typhusbacillen mit Paratyphusserum. Die einzelnen Typhusstämme verhalten sich ausserordentlich verschieden. Während einige Stämme von hochwerthigem Paratyphusserum nicht stärker als von normalem Serum agglutinirt werden, werden andere bis 1:100, 1:200 oder gar 1:500 beeinflusst. Gesetzmässigkeiten lassen sich hier aber nicht feststellen.

Die an einem so grossen Material in umfassendster Weise, unter vielfacher Wiederholung der Einzelversuche angestellten Untersuchungen von Kutscher und Meinicke zeigen auf's Neue, wie vorsichtig man bei der Verallgemeinerung der an einer Bakterienart oder wenigen Stämmen derselben gewonnenen Ergebnisse sein muss. Was für den Typhusbacillus, für die Vibrionen, für die Pestbakterien, namentlich bezüglich der Immunitätsreactionen gilt, darf nicht auf die Paratyphusbacillen übertragen werden und umgekehrt. Auch Schlüsse von Ergebnissen, die nur an wenigen Stämmen gewonnen sind, auf ein gesetzmässiges Verhalten aller Culturen einer Species sind mit Vorsicht zu ziehen.

Zusammenfassend lässt sich über den Werth der Immunitätsreactionen für die Differenzirung und Identificirung der Bakterien der Paratyphusspecies und die praktische Verwerthung dieser wissenschaftlichen Gesichtspunkte Folgendes sagen:

Die Agglutination ist bei Benutzung hochwerthigen Serums und genauer Befolgung der bekannten Methodik der makroskopischen quantitativen Probe ein unentbehrliches und zuverlässiges Mittel, die zur Species des echten Paratyphusbacillus gehörenden Bakterien zu identificiren. Die Ergebnisse der Agglutination gehen durchaus parallel denjenigen mittels



hochwerthigen bakteriolytischen Serums und der Prüfungen mittels activ immunisirter Meerschweinchen. Auch wechselseitige Prüfungen der mit den verschiedenen Bakterienarten (Paratyphus- — Enteritis-Gruppe I — und Mäusetyphusbacillen) hergestellten Serumproben auf Agglutinine und Bakteriolysine führen stets zu denselben Ergebnissen.

Die Agglutinationsprobe leistet mit ganz wenigen Ausnahmen völlig dasselbe wie die Bakteriolysine im Thierversuche. Aber gerade die wenn auch seltenen Ausnahmen zeigen, dass auch der Agglutination, so werthvoll sie ist und so vielfach sie eine Trennung von Arten da ermöglicht, wo alle anderen Methoden im Stich lassen, gewisse Grenzen gezogen sind. Eine allgemeine Formel ist auch in der specifischen Agglutination für die Trennung von Arten noch nicht gefunden. So werden z. B. von einem hochwerthigen baktericiden Mäusetyphusserum sämmtliche Paratyphusculturen gleichmässig beeinflusst, während das hochwerthig agglutinirende Mäusetyphusserum einen Theil dieser Culturen nicht viel stärker als Typhusserum agglutinirt. Umgekehrt giebt es, wie Kutscher fand, Typhusculturen, welche nur mittels der Agglutination und cultureller Methoden von gewissen Paratyphusstämmen zu trennen sind, während die Prüfungen mit baktericidem Serum oder an activ immunisirten Thieren eine Trennung der Species nicht ermöglichen. Doch sind das immerhin Ausnahmen. Das gilt auch für die Fälle, in denen die Agglutination sowohl wie die Bakteriolysine zur Trennung der Arten im Stich lassen, während die culturellen Methoden eine rasche und sichere Differenzirung gestatten. Die Enteritisbakterien z. B., welche durch Paratyphusserum nicht agglutinirt oder im Thierversuch beeinflusst werden (Gruppe II Typus Gärtner), werden vom Typhusserum fast ebenso hoch agglutinirt oder im Thierversuch beeinflusst wie echte Typhusbakterien, während sie culturell (Gährungsprobe, Wachsthum in Milch) ohne Weiteres als von den Typhusbacillen durchaus verschiedene Mikroorganismen erkannt werden können. Niemand ist also in der Lage, auf Grund der Beeinflussung von Bakterien mittels hochwerthig agglutinirenden oder baktericiden Typhusserums ohne Weiteres bei positivem Ausfall dieser Probe zu sagen: es handelt sich um Eberth-Gaffky'sche Bacillen, wenn nicht zugleich die culturellen Methoden herangezogen sind. Auch bei negativem Ausfall der Agglutinationsprobe ist, soweit es sich um Typhusserum und typhusverdächtige Culturen handelt, ein Urtheil über die Bakterienart nicht zu fällen. Denn es giebt schwer agglutinabele Typhusculturen; besonders oft sind gerade die frisch aus dem Menschen isolirten Culturen inagglutinabel oder schwer agglutinirbar. Wie Friedberger, Besserer und Jaffé fanden, giebt es aber auch Typhusculturen, die vom specifischen Typhusserum schwer im Pfeiffer'schen Versuch



mittels der Bakteriolysine zu beeinflussen sind. Diese „serumfesten“ Culturen können durch die Agglutination identificirt werden.

Auf Grund aller dieser Thatsachen komme ich zu dem Schluss, dass zur Identificirung und Differenzirung der Bakterien der Paratyphusspecies die Heranziehung sowohl der culturellen und biologischen Eigenschaften der Culturen wie der Immunitätsreaction unerlässlich ist. Beide müssen sich ergänzen. Man wird allerdings gelegentlich auf Culturen stossen, die weder mit culturellen Merkmalen noch mit den Agglutininen oder Bakteriolysinen zu identificiren sind. Ein solcher Fall kann z. B. vorliegen bei inagglutinabelen Typhusculturen, deren Beeinflussung im Pfeiffer'schen Versuch durch hochwerthiges baktericides Typhusserum eine geringe ist, wie das Besserer und Jaffé beobachtet haben. In diesen Fällen wird die active Immunisirung von Thieren und die Gewinnung baktericider oder agglutinirender Serumproben an Kaninchen indessen ein Mittel sein, um über die Natur zweifelhafter Culturen in's Klare zu kommen.

Die Immunitätsreactionen sind, das haben die grossen systematisch durchgeführten Versuchsreihen wieder ergeben, von verschwindenden Ausnahmen abgesehen, specifisch. Nicht den Gattungen oder Gruppen, sondern den Arten der Bakterien sind sie bei richtiger Versuchsanordnung congruent. Für das praktische Arbeiten bietet die Agglutination in Verbindung mit dem Studium der culturell-biologischen Kennzeichen bezüglich der Erkennung der Paratyphusbakterien genau dasselbe, was sie für die Differenzirung der Choleravibrionen von den choleraähnlichen Vibrionen geleistet hat.



[Aus dem Königl. Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)
(Abtheilungs-Vorsteher: Prof. Dr. W. Kolle.)

Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen.

Von

Stabsarzt Dr. **Kutscher**, kommandirt zum Institut. und Dr. **E. Meinicke**, Assistenten am Institut.

Unter den Bakterien der Typhus-Coligruppe haben in den letzten Jahren die Erreger des Paratyphus und der Fleischvergiftungen einerseits, die einiger Thierseuchen, wie z. B. des Mäusetyphus und der Hogcholera andererseits das Interresse der Bakteriologen in hohem Maasse erregt. Trotz der zahlreichen Arbeiten über diesen Gegenstand ist jedoch die Stellung dieser einzelnen Bakterienarten zu einander noch keineswegs in allen Punkten geklärt.

Auch das Verhältniss des Abdominaltyphus zum Paratyphus ist zur Zeit noch umstritten. Die Mehrzahl der Forscher plaidirt im Gegensatz zu Jürgens[1] und einigen Anderen dafür, Typhus und Paratyphus scharf zu trennen und zwar namentlich auf Grund der wesentlichen culturellen und biologischen Differenzen ihrer Erreger.

Bereitet es, wie aus den folgenden Untersuchungen des Näheren hervorgehen wird, keinerlei Schwierigkeiten, den Typhusbacillus vom Paratyphusbacillus zu unterscheiden, so stellen sich einer scharfen bakteriologischen Trennung der als Paratyphus, fieberhafte Fleischvergiftung und Enteritis beschriebenen Krankheiten des Menschen einerseits und einiger Thierkrankheiten, wie Mäusetyphus, Hogcholera andererseits, grosse Hindernisse in den Weg. Die Anschauungen der Autoren über diese Frage

[1] *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. LII.



gehen daher auch weit aus einander. Doch hat diese Meinungsverschiedenheit nicht nur in der Schwierigkeit des Gegenstandes ihren Grund, sondern ist zum Theil mit Sicherheit auf andere Ursachen zurückzuführen.

Zunächst wird immer wieder der Versuch gemacht, allein auf Grund von Agglutinationsversuchen mit Kranken- bezw. Reconvalescentensera eine Gruppirung der Bakterien herbeizuführen. So behauptete neuerdings Schottmüller[1] lediglich auf Grund von culturellen Untersuchungen und einigen Agglutinationsversuchen mit Krankensera die Identität vom Paratyphusbacillus Typus B und Bacillus enteritidis Gärtner. Das ist nach dem heutigen Stande der Wissenschaft nicht mehr als berechtigt anzuerkennen. In dem Krankheitsprocess haben wir einen äusserst complicirten Vorgang vor uns, den wir vorläufig nur in ganz groben Umrissen übersehen können. Wir wissen zur Zeit noch nicht, warum z. B. in dem einen Typhusfall das Serum des Patienten agglutinirt, im anderen nicht. Wir wissen nicht, warum oft die Reaction streng specifisch nur mit dem Typhusbacillus eintritt, in anderen Fällen das Serum auch Paratyphusbacillen in geringem Grade beeinflusst. Wir wissen ebenso wenig, warum zuweilen der Titer eines Typhuskrankenserums für Paratyphusbacillen ebenso hoch oder höher ist als für Typhusbacillen.

Der erklärenden Hypothesen kann es da eine ganze Anzahl geben: Zunächst scheinen Paratyphusbacillen im Allgemeinen mit menschlichem und thierischem Serum leichter agglutinabel zu sein als Typhusbacillen. Macht man nicht ausgedehnte Controluntersuchungen, so kann man fälschlich in dem stärkeren Agglutinationsresultat etwas Specifisches erblicken. Ferner kann der betreffende Typhuskranke vor kürzerer oder längerer Zeit einen ambulanten, gar nicht beachteten Paratyphus durchgemacht haben; die hohe Agglutinationskraft für Paratyphusbacillen wäre damit erklärt. Wie weit wir endlich mit Mischinfectionen zu rechnen haben, ist noch keineswegs entschieden und auch wohl schwer mit den heute bekannten Methoden, auch nicht immer mit dem Castellani'schen Versuch, zu erforschen. Kurz: es bleibt dem subjectiven Ermessen des Einzelnen überlassen, ob er paradox erscheinende Agglutinationsresultate, die er mit Krankensera erzielt, als hohe „Gruppenagglutination“ auffassen will oder nicht.

Bei Versuchen, welche die Identität oder die Verschiedenheit von Krankheitserregern ergründen sollen, müssen aber unbedingt Methoden verlangt werden, die dem subjectiven Deuten möglichst wenig Spielraum lassen, die objectiv arbeiten. Zu derartigen systematischen Untersuchungen

[1] *Münchener med. Wochenschrift* 1904.



sind mit den sorgfältig reingezüchteten und nach allen Richtungen geprüften Bakterienstämmen künstlich an geeigneten Versuchsthieren erzeugte Sera zu benutzen bezw. im Thierversuch die active Immunität zu prüfen. Alle mit dem Serum von Kranken erzielten Resultate haben für die Differenzirung der Bakterien keinen entscheidenden Werth.

Aber auch die systematischen Untersuchungen der einzelnen Autoren mit von immunisirten Thieren gewonnenen Sera haben verschiedene Resultate gehabt.

Wie bei der Besprechung unserer eigenen Versuche des Näheren ausgeführt wird, hatten in einzelnen Fällen die Forscher vermuthlich nicht immer die richtigen Culturen in Händen. Zumal mit dem Stamm „Enteritis Gärtner“ scheint hier und da eine Verwechselung vorgekommen zu sein. Vielleicht wurde auch in einigen Fällen die unerlässliche Prüfung auf Reinheit der Culturen nicht scharf genug gehandhabt.

Endlich ist auch die gewählte Methode nicht immer als einwandsfrei zu bezeichnen. Wenn z. B. Agglutinationsresultate, bei denen im mikroskopischen Bild 3 bis 4 Bacillen zusammenliegen, als positiv gedeutet werden, wenn Angaben über exacte Controluntersuchungen mit normalen Sera fehlen, wenn das Alter der verwandten Culturen variirt u. s. w., dann kann wohl das abweichende Resultat auch durch die Methodik herbeigeführt worden sein. Auch in der Deutung der Befunde finden sich mancherlei angreifbare Punkte; so ist bei Agglutinationsversuchen, um nur ein Beispiel herauszugreifen, bei der sog. Gruppenagglutination der Titer des Serums gegen die Mehrzahl der Stämme (homologe Stämme) nicht immer ganz berücksichtigt worden. Es wird z. B. das Resultat eines Serums vom Titer 1:500 mit dem eines vom Titer 1:10000 in Vergleich gesetzt, was absolut unstatthaft ist, da sich in der Regel mit steigendem specifischem Titer auch der Gruppentiter verändert.

Dies letzte Beispiel ist einer Arbeit von Zupnik[1] entnommen, die aus den verschiedensten Gründen eine eingehende Besprechung erfordert. Zupnik verwerthet kritisch eine grosse Zahl von Arbeiten anderer Autoren und giebt an Eigenem im Wesentlichen culturelle Untersuchungen und Agglutinationsversuche mit den Bakterien der Typhus-Coligruppe. Zupnik vertritt einen von den meisten Autoren abweichenden Standpunkt und glaubt, ihn durch seine Versuche stützen zu können. Er hält alle heute bekannten Immunitätsreactionen für nicht art-, sondern gattungs-specifisch. Im Speciellen sucht er dies bei den Bakterien der Typhus-Coligruppe nachzuweisen. Er schreibt z. B. auf S. 509: „Durch die im Voranstehenden gegebene Charakterisirung dieser beiden

[1] *Diese Zeitschrift.* 1904.



Gattungen (gemeint ist die Typhus- und Coligattung) ist eine endgültige Lösung der Typhus-Colifrage erfolgt. Viele Hunderte von Publicationen hatten eine Differenzirung von Typhus- und Colibakterien zum Zwecke. Das Angestrebte wurde bis auf den heutigen Tag nicht erreicht und könnte auch, so lange die heute gültigen Anschauungen über „atypische“ Colibacillen zu Recht bestehen würden, niemals erreicht werden. . . .“ Sieht man genauer zu, so entdeckt man, dass Zupnik, trotzdem er alles Störende, wie Paratyphus u. s. w. -Bacillen aus seiner Coligattung entfernt, doch noch genug Stämme darin behält, die nicht recht hineinpassen wollen. Er hat im Ganzen 28 Colistämme untersucht; davon passen fünf culturell und immunisatorisch nicht in seine Coligattung, drei wohl culturell aber nicht immunisatorisch. Das sind 8 von 28 Stämmen, bei denen die „endgültige Lösung“ versagt; oder in Procenten: bei 30 Procent der untersuchten Colistämme versagt das Zupnik'sche Princip. Derselbe Widerspruch zwischen Behauptung und beobachteten Thatsachen kehrt in der Zupnik'schen Arbeit mehrfach wieder. So schreibt er auf S. 460:

„1. menschliche Blutsera und thierische Immunsera agglutiniren specifisch ausser dem correspondirenden Infectionserreger auch andere gattungsverwandte Arten;

2. der gattungsspecifische Titer dieser Reaction kann dieselben und auch höhere Werthe aufweisen als der der artspecifischen.“

Dieser zweite Satz stimmt nur für seltene Fälle von Krankensera, nie und nimmer aber für künstliche Immunsera. Einen Beleg für seine Behauptung bringt Zupnik nirgends. Trotzdem zieht er aber aus der unbewiesenen Behauptung folgenschwere Schlüsse:

„Von praktischen sich daraus ergebenden Consequenzen hebe ich hier nur die eine hervor: Die Agglutinirbarkeit verschiedener Bakterienstämme durch dasselbe Immunserum beweist nicht die Identität derselben.

Und noch mehr, ich erachte aus sofort auszuführenden Gründen die heute übliche Identificirung verschiedener Bakterienstämme auf dem Wege der Agglutination, d. h. die Arten-Agglutinationsdiagnostik, als eine von vornherein verwerfliche Methode; sie lässt, was wir weiter unten beweisen wollen, ebenso wie viele andere Gattungsmerkmale bloss die Gattung erschliessen.“

Den Werth vergleichender quantitativer Untersuchungen für die Differenzirung der Bakterienarten scheint Zupnik sehr niedrig einzuschätzen. Auf S. 462 schreibt er zwar: „die praktisch-diagnostische Seite der Agglutination muss, wie wir glauben, getrennt von der Frage nach der Art- oder Gattungsspecifität dieser Reaction behandelt werden.“



In seinen eben citirten Schlussfolgerungen (S. 460) wirft er nichtsdestoweniger beides zusammen. Ja auf S. 465 verallgemeinert er seine Ansicht zu der Behauptung: „Bei diesem Sachverhalt im Bereiche der Gattungen „Typhusbacillus", „Colibakterien", „Vibrionen", der Koch'schen u. s. w. — die sich alle aus allgemein anerkannten, unter einander verschiedenen Arten zusammensetzen — darf, glaube ich, der Agglutination auch auf anderen bakteriologischen Gebieten die Dignität einer artdiagnostischen Methode nicht zugesprochen werden; dies besonders dann nicht, wenn Bakterien im Spiele sind, deren Art-Einheit oder -Vielheit noch strittig erscheint." Wie Zupnik selbst sich das Studium der Artendifferenzirung denkt, sagt er leider nicht.

Auf S. 479 stehen die Sätze: „Diese richtig getroffene Vereinigung einzelner nicht specifischer Gattungsmerkmale grenzt eine Anzahl natürlich verwandter Arten — die Gattung eben — scharf und präcise von allen sonstigen ab. Festigend und absolut beweisend für die Richtigkeit unserer Wahl wirken dann die innerhalb so aufgebauter Gattungen auftretenden specifischen Gattungsreactionen." Die Probe auf's Exempel haben wir bei der Coligattung schon beleuchtet; bei der Typhusgattung steht der Zupnik'sche Gattungsbegriff ebenso wenig fest. Auf S. 481 rechnet Zupnik die Ruhrbakterien auch in die Typhusgattung, auf S. 484 lässt er es unerwähnt, ob er sie einrechnet und am Schluss der Arbeit bilden die Dysenteriestämme plötzlich eine eigene Gattung, die Zupnik gar nicht unterbringen kann.

Das nennt er (S. 529) das „Bestehen der Feuerprobe". Weiterhin stellt Zupnik unter anderem die Behauptung auf, dass alle Bakterienarten einer Gattung sich immunisatorisch in mehr oder weniger hohem Grade beeinflussten, von den Bakterien einer anderen Gattung aber gar nicht beeinflusst werden. Mit dieser Behauptung steht und fällt sein ganzes Gattungsprincip. Den Beweis bleibt er schuldig. Einerseits bleiben in seiner Typhusgattung einzelne Stämme von Immunsera anderer Arten derselben Gattung unbeeinflusst. (Tabellen auf S. 451 bis 455), dasselbe Bild sieht man bei der Coligattung (Tabellen auf S. 520 bis 523); andererseits werden hier eine Anzahl Colistämme auch von Vertretern der Typhusgattung mitagglutinirt.

Da dies Resultat sehr schlecht in das Schema passt, giebt Zupnik die neuen Erklärungen ab:

1. Colibacillen sollen auch von ganz differenten Sera leicht beeinflusst werden,

2. die Mitagglutination der Colibacillen sei nur gering gewesen,

3. das Resultat sei vereinzelt gewesen; (wir rechnen 30 Procent).



Würde **Zupnik** dieselben Kriterien auf die gegenseitige Beeinflussung der verschiedenen Arten seiner Typhusgattung anwenden, und logischer Weise müsste er das, so fallen die Resultate, die in den Agglutinationstabellen auf S. 452 bis 454 enthalten sind, in sich zusammen. Und gerade hiermit soll die Eintheilung der Gattungen bewiesen werden. Wo übrigens die sog. Typhus- bezw. Paratyphus- u. s. w. ähnlichen Stäbchen untergebracht werden sollen, sagt **Zupnik** nirgends. Wir meinen die Bakterien, die z. B. culturell dem Typhusbacillus vollkommen gleichen, aber nicht von Typhussera beeinflusst werden. Sollen sie trotzdem zur Typhusgattung gehören?

Die angeführten Beispiele dürften genügen, um zu zeigen, wie wenig objectiv **Zupnik** bei der Deutung seiner Versuche zu Werke geht und wie wenig die Angaben über „endgültige Lösung u. s. w." durch seine Resultate bei kritischer Betrachtung begründet sind.

Auf seine Methodik und einige seiner Versuchsergebnisse werden wir im Einzelnen bei der Besprechung unserer eigenen Versuche zurückzukommen haben. Es sei schon hier erwähnt, dass auch die objectiven Grundlagen seiner Behauptungen zur Kritik mancherlei Anlass geben.

Unsere eigenen Untersuchungen verfolgten den Zweck, an einem grossen Material von Typhus-, Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusculturen die Stellung der genannten Bakterienarten zu einander nach allen wichtigen Gesichtspunkten und nach allen Richtungen vergleichend zu prüfen. Bei den grossen Schwankungen in den Litteraturangaben schien es uns geboten, die Frage nach der Stellung der erwähnten Bakterienarten im System und zu einander von Neuem aufzunehmen. Unter Bakterien mit dem gleichen Namen verbergen sich vielfach ganz verschiedene Bakterienarten. Unsere Untersuchungen waren bereits abgeschlossen, als die **Zupnik**'sche Arbeit erschien. Sie war uns mit ihren auffallenden Behauptungen ein neuer Beweis, wie nothwendig die Bearbeitung unserer Frage mit exacten Methoden war. Deshalb sind wir im Vorhergehenden auch auf die genannte Arbeit ausführlicher eingegangen. Vor Allem war sie auch ein Beweis dafür, dass man mit einseitigen Untersuchungen (**Zupnik** machte nur culturelle und Agglutinationsversuche) eher Verwirrung als Klarheit schafft.

Verzeichniss der untersuchten Culturen.

Die vorliegenden Untersuchungen umfassen im Ganzen 90 Stämme, die uns aus den verschiedensten Theilen Deutschlands und zum Theil auch aus dem Ausland in der liebenswürdigsten Weise zur Verfügung gestellt wurden.



Wir haben die Culturen unter folgenden Bezeichnungen erhalten:

64 Stämme Paratyphus B,
5 „ „ A,
17 „ Enteritis,
4 „ Mäusetyphus,

90 Culturen.

Ueber die Bezeichnung der Culturen nach ihrer Herkunft giebt die folgende Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Nr.	Bezeichnung	Uebersendet von	Lfd. Nr.	Nr.	Bezeichnung	Uebersendet von
		A. Paratyphus B.		32	220	Kallmeier	Conradi
1	36	Hamm	Lentz	33	221	Zapp	„
2	39	Auguste Molter	„	34	222	Freis	„
3	41	Heinrich Loch II	„	35	223	aus Wasser II	„
4	45	Hünermann	Laboratoriums-cultur	36	224	Oppermann	„
				37	225	Schütz	„
5	46	—	„	38	226	Strassmann	„
6	51	Paula Willrich	Lentz	39	327	aus Wasser I	„
7	55	Adele Willrich	„	40	228	Praudidier	„
8	62	Ernst Willrich	„	41	230	Reimers	Schottmüller
9	128	Fr. Hügel	„	42	231	Graeve	„
10	131	Albert Cresar	„	43	235	Peters	„
11	133	Schöpper A	„	44	238	Seemann	„
12	139	Frau Werle	„	45	239	—	Lentz
13	140	Léonard	„	46	240	Gerhardt Schmidt	„
14	143	J. Werle	„	47	241	Julius Werle II	„
15	144	Horbach	„	48	250	Wendt	B. Fischer
16	168	Bertha Loch	„	49	251	Lunau	B. Fischer
17	170	Bertha Kleinz	„	50	272	Polonck	Flügge
18	171	Jacob Kehl (Sohn)	„	51	273	Schubel	„
19	172	Frau Köhler	„	52	275	Seemann I	Bonhoff
20	173	Frau Nissen	„	53	276	Seemann II	„
21	174	Herr Kleinz	„	54	279	Achard	„
22	175	Frau Kehl	„	55	282	Pelzer	v. Drigalski
23	177	Walter Trommers-hausen	„	56	283	Anton	„
				57	284	Walter Busse	„
24	178	Martha Ring	Lentz	58	285	Nora Busse	„
25	179	Frau Reibel	„	59	286	Frau Stutz	„
26	180	Frau Kleinz	„	60	287	Jacob Wasmuth	„
27	215	Bolken	Conradi	61	288	Daniel Jung	„
28	216	Grete	„	62	289	Johann Stutz	„
29	217	Bosche	„	63	290	Karl Klee	„
30	218	Gundlach	„	64	291	Nobel	„
31	219	Müller	„				



Tabelle I. (Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	Nr.	Bezeichnung	Uebersendet von	Lfd. Nr.	Nr.	Bezeichnung	Uebersendet von
		B. Paratyphus A.		9	263	Calmphout	v. Ermengem
1	47	—	Labor.-Cultur	10	264	Gent	„
2	237	Müller	Schottmüller	11	265	Brügge	„
3	245	Barg	„	12	266	Flügge	„
4	277	Brion-Kayser	Bonhoff	13	267	Meirelbeek	„
5	278	Hewlet	„	14	268	Sirault	„
		C. Enteritis.		15	269	Durham	„
1	243	Gärtner	Labor.-Cultur	16	270	Aertryck	„
2	244	„	Gärtner	17	271	Günther	Günther
3	248	Rumfleth	B. Fischer				
4	249	Haustädt	„			**D. Mäusetyphus.**	
5	259	Smith	v. Ermengem	1	246	Mäusetyphus	Piorkowski
6	260	Moorseele	„	2	274	„ virulent	Löffler
7	261	Brüssel	„	3	280	„ III A.	Bonhoff
8	262	Gärtner	„	4	281	„ III B.	„

Wie aus der Tabelle I hervorgeht, verdanken wir die zu unseren Untersuchungen benutzten Culturen zum grössten Theil der Güte der Herren: Geheimrath Prof. Dr. **Flügge** in Breslau, Geheimrath Prof. Dr. **Löffler** in Greifswald, Geheimrath Prof. Dr. **Gärtner** in Jena, Prof. Dr. **van Ermengem** in Gent, Prof. Dr. **Bonhoff** in Marburg, Prof. Dr. B. **Fischer** in Kiel, Geheimrath Prof. Dr. **Günther** in Berlin, Kreisassistenzarzt Dr. O. **Lentz** in Saarbrücken, Dr. **Schottmüller** in Hamburg, Dr. **Conradi** in Trier und Stabsarzt Dr. v. **Drigalski** in Cassel.

Es sei auch an dieser Stelle nochmals allen Herren, die uns in der liebenswürdigsten Weise Culturen übersandten, unser verbindlichster Dank ausgesprochen.

Die uns zur Verfügung gestellten 90 Culturen wurden mit den heute bekannten Methoden nach allen Richtungen hin untersucht: Es wurden ihre morphologischen Charaktere im gefärbten Deckglaspräparat festgestellt, die Beweglichkeit und das Verhalten gegenüber verschiedenen Farbstoffen geprüft. Dann wurden die culturellen Eigenschaften einer vergleichenden Untersuchung unterworfen. Mit einer grösseren Anzahl der Culturen wurden an Thieren künstlich agglutinirende und baktericide Sera hergestellt und gegen alle Stämme ausgewerthet. Daneben wurden ausgedehnte Virulenz- und Pathogenitätsprüfungen ausgeführt. Schliesslich wurden die in den Serumversuchen erhaltenen Resultate durch Prüfung der Culturen an activ immunisirten Meerschweinchen ergänzt.

Ganz besondere Sorgfalt wurde auf die Reinheit der Culturen verwandt. Alle uns eingesandten Stämme wurden zunächst über Lackmus-



milchzucker-Agarplatten geschickt. Blaue verdächtige Colonieen wurden dann mit den verschiedensten Serumproben orientirend agglutinirt und abgestochen, aber zunächst nicht auf schräg erstarrtem Agar. Vielmehr wurden die Stämme von isolirten Colonieen aus noch einmal über gewöhnliche schwach alkalische Agarplatten geschickt. Hier wurden sie wiederum der orientirenden Agglutinationsprobe unterworfen und von den einwandsfrei agglutinirten Colonieen dann Reinculturen auf schräg erstarrtem Agar angelegt. Dies umständliche Verfahren schien uns nothwendig zu sein, weil die Gefahr, dass eine Verunreinigung unbemerkt bleibt, bei ausschliesslicher Verwendung des Lackmus-Milchzucker-Agars wegen des auf viele Bakterien entwickelungshemmenden Einflusses des Krystallvioletts sehr gross ist. Es ist daher leicht möglich, dass die Colonieen Bakterien enthalten, von denen eine Art zwar durch den Krystallviolettzusatz zurückgehalten wird, später indess auf gewöhnlichem Agar zur Auskeimung gelangt. So können in einer Paratyphus B-Colonie auch Paratyphus A-Bacillen oder gar Typhusbacillen vorhanden sein, ohne dass man dieses äusserlich der Colonie ansehen kann. Man bekommt dann natürlich, wenn man von einer derartigen Mischcolonie ausgeht, schwankende culturelle und immunisatorische Ergebnisse, eine Fehlerquelle, die sich eben durch wiederholte Züchtung der Culturen auf Platten von gewöhnlichem Agar vermeiden lässt.

Nachdem wir unsere Sammlungsculturen in der angegebenen Weise gewonnen hatten, wurde von dieser ersten Sammlung sofort eine zweite angelegt. Die erste Sammlung blieb während der ganzen Dauer unserer Untersuchungen in einer Hand und wurde mindestens jeden Monat stets von demselben Mitarbeiter übertragen. Auf diese Weise konnten Verwechselungen von Stämmen vermieden werden. Ergab die Prüfung einer Cultur der zweiten Sammlung auffallende Resultate, so wurde sie mit der betreffenden Nummer der ersten Sammlung verglichen. Erst wenn beide übereinstimmten, wurde das Resultat als einwandsfrei anerkannt. Es mag übertrieben scheinen, wenn wir so ausführlich auf diese eigentlich selbstverständlichen Dinge eingegangen sind; wir glauben aber, dass in diesem Punkt gerade viel gesündigt wird, und dass manches merkwürdige Versuchsergebniss, namentlich manche sogen. „Umzüchtung“, lediglich auf verunreinigte Culturen zurückzuführen ist.[1]

[1] Während der Drucklegung unserer Untersuchungen erschien eine Arbeit von Berghaus (*Hygienische Rundschau,* 1905, Nr. 15), in welcher nachgewiesen wird, dass speciell die Altschüler-Döbert'schen Umzüchtungen von Typhusbacillen in Bac. faecal. alcaligenes auf die Verwendung von Mischculturen beider Bakterienarten, welche von Drigalski-Conradi'schem Nährboden stammten, zurückzuführen sind.



Morphologie.

Alle Culturen wurden zunächst mikroskopisch im gefärbten Präparat und im hängenden Tropfen untersucht. In beiden Fällen benützten wir Agarculturen, die 18 bis 20 Stunden bei 37° gewachsen waren.

Die Präparate wurden mit einer verdünnten Fuchsinlösung gefärbt. Wesentliche Unterschiede in der Grösse und Gestalt der Bacillen traten nicht zu Tage. Man sieht im Allgemeinen in jedem Präparat alle Uebergänge von kurzen plumpen Formen zu längeren schlankeren; namentlich in Culturen, die jünger als 18 Stunden sind, überwiegen die kurzen Formen. Paratyphus-, Mäusetyphus- und Enteritisbacillen sind im gefärbten Präparat weder von einander noch auch mit Sicherheit vom Typhusbacillus zu trennen.

Höchstens könnte differential-diagnostisch in Frage kommen, dass man bei Typhusbacillen häufiger Fadenbildung beobachtet, was bei den anderen Arten unter denselben Bedingungen nur äusserst selten der Fall ist. Unter den Vertretern des Paratyphus B fanden sich einzelne Stämme, bei denen entweder lange oder kurze Formen in überwiegender Zahl bei oft wiederholten Prüfungen beobachtet wurden. So zeigte Nr. 168 fast ausschliesslich lange Formen, auffallend kurz und plump waren dagegen Nr. 171, 173, 230, 231 und 235. Bei den Bakterien der anderen Arten konnten derartige anscheinend constante Differenzen nicht gesehen werden.

Der Vollständigkeit halber wurden alle Stämme der Gramfärbung unterzogen und entfärbten sich dabei ausnahmslos.

Die Prüfung auf Beweglichkeit wurde in der Weise vorgenommen, dass mit der Nadel eine Spur einer 18 stündigen Agarcultur in Bouillon vom gleichen Alkalescenzgrad wie der Agar verrieben und im hängenden Tropfen beobachtet wurde. Die Bouillon wurde vor dem Versuch einige Zeit im Thermostaten bei 37° gehalten, damit die Beweglichkeit der Culturen nicht etwa durch Kälte gehemmt wurde. Wir nahmen zu der Prüfung Agar- und nicht Bouillonculturen, weil von den verschiedensten Autoren beobachtet war, dass die Bakterien der von uns untersuchten Gruppen in Bouillon oft schleimig, ja sogar in Häutchen auf der Oberfläche wachsen und dann weniger beweglich sind.

Erwies sich die Beweglichkeit als auffallend schwach, so wurde das Präparat einige Zeit im Thermostaten bei 37° gehalten, um den Bakterien Gelegenheit zu geben, sich dem neuen Nährmedium vollkommen anzupassen und ihr Temperaturoptimum zu erreichen. Zeigten sich die Bakterien auch dann noch wenig oder träge beweglich, so wurden zur Controle jüngere Culturen, meist 12 stündige herangezogen; denn es ist eine bekannte Thatsache, dass einzelne Bakterienstämme nur in ganz jungen Culturen gut beweglich sind. Erst wenn sich ein Stamm bei



diesen einzelnen Prüfungen, die natürlich an den verschiedensten Tagen wiederholt wurden, als schlecht beweglich erwiesen hatte, wurde ihm dieses Prädicat definitiv zuertheilt.

Im Allgemeinen ist die Beweglichkeit der Paratyphus-, Mäusetyphus- und Fleischvergiftungsbakterien eine recht gute und die Art ihrer Bewegung hat manches Charakteristische.

Von der Beweglichkeit des Typhusbacillus unterscheidet sie sich in mehreren Punkten. Zunächst ist die Vorwärtsbewegung im Gesichtsfeld bei unserer Gruppe meist eine viel schnellere. Dann erfolgt die Bewegung nicht so bohrend, wackelnd und schlängelnd, wie beim Typhusbacillus, sondern mehr vorwärtsschiessend. Es lassen sich die Unterschiede mit Worten sehr schwer beschreiben. Vielleicht wird das, was wir meinen, am deutlichsten, wenn wir sagen, dass die Beweglichkeit des Paratyphusbacillus und der ihm nahestehenden Bakterien in Schnelligkeit und Art etwa die Mitte hält zwischen jener des Eberth-Gaffky'schen Bacillus und des Koch'schen Choleravibrios. Die Unterschiede sind natürlich nicht so markant, dass man nach dem Präparat im hängenden Tropfen stets genau sagen könnte, was Typhus und was Paratyphus ist. Aber findet man z. B. in einem Präparat neben schneller durchs Gesichtsfeld rollenden und bohrenden Bacillen öfters an einander hängende, die sich langsam mit schlängelnden, wackelnden Bewegungen vorwärts bewegen, so spricht das schon für Typhusbacillen. Ist die Beweglichkeit andererseits sehr lebhaft und bietet der hängende Tropfen mehr das Bild des Durcheinanderschwirrens wie bei Choleravibrionen, so wird man an Paratyphus-, Mäusetyphus- oder Enteritisbacillen zu denken haben. Die schnellere Beweglichkeit, speciell der Paratyphusbacillen, haben schon Schottmüller[1] und Beljaeff[2] hervorgehoben.

Von unseren Paratyphus B-Culturen war nur Nr. 275 ziemlich schlecht beweglich, Nr. 227, 230 und 231 mittelstark, alle anderen aber lebhaft beweglich. Durch ausserordentlich starke Eigenbewegung zeichneten sich die Stämme Nr. 46, 133, 143, 171, 172, 173, 178, 179, 180, 215, 217, 218, 219, 223, 224, 225 und 250 aus. Wie gleich hier bemerkt sein mag, waren die weniger beweglichen Stämme auch etwas schwerer agglutinabel. Ein derartiges correspondirendes Verhalten von Beweglichkeit und Agglutinabilität ist schon mehrfach in der Litteratur betont worden.

Die fünf Culturen vom Typus des Paratyphus A neigten sich in der Schnelligkeit und Art ihrer Bewegung mehr dem Typhusbacillus zu.

Die Mäusetyphus- und Enteritisculturen dagegen zeigten sich durchgehends lebhaft beweglich.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVI.

[2] Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Bd. XXXIII.



Culturelles.

Unsere vergleichenden culturellen Untersuchungen erstrecken sich auf folgende Nährböden und Reactionen:

1. Gewöhnlicher schwach alkalischer Agar.
2. Gewöhnliche schwach alkalische Bouillon.
3. Lackmus-Milchzucker-Agar.
4. Neutralrothagar bezw. Gährkölbchen.
5. Barsiekow-Milchzucker.
6. Barsiekow-Traubenzucker.
7. Lackmusmolke.
8. Milch.
9. Indol.
10. Gelatine.

Die culturellen Merkmale der Paratyphus-, Mäusetyphus- und Enteritisbacillen sind bereits mehrfach einem eingehenden Studium unterworfen und in der Litteratur beschrieben worden. Doch schwanken die Angaben der einzelnen Autoren in manchen Punkten. Namentlich in der Werthschätzung der verschiedenen Nährböden in differentieller Hinsicht sind sich die Forscher keineswegs einig. Auch war die Frage, ob sich Paratyphusbacillen culturell von Mäusetyphus- und Enteritisbakterien unterscheiden lassen, noch immer umstritten. Es schien uns daher geboten, an unserem grossen Material die verschiedenen Reactionen nachzuprüfen. In jedem Falle wurden ausgedehnte vergleichende Proben mit sicheren Typhus- und Colibacillen beimpft.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, dass man die Erreger des Paratyphus B, des Mäusetyphus und der Fleischvergiftungen culturell nicht von einander trennen kann, während der Paratyphusbacillus A eine gesonderte Stellung einnimmt. In differential-diagnostischer Beziehung wurde namentlich auf das Wachsthum des Typhus- und Colibacillus Werth gelegt.

Auf gewöhnlichem Agar ist das Wachsthum der Paratyphus- u. s. w. Culturen nicht sehr charakteristisch, wie Conradi, v. Drigalski und Jürgens[1] mit Recht hervorheben. Sehr häufig wachsen zwar die Paratyphus B-, Enteritis- und Mäusetyphusbacillen etwas üppiger als Typhus, worauf Schottmüller[2] aufmerksam macht, und Paratyphus A; doch ist dies Verhalten nicht constant genug, um praktisch verwerthet werden zu können. Vor Allem aber wächst der Typhusbacillus keineswegs immer

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XLII.
[2] *Ebenda.* Bd. XXXVI.

in so zarten Colonieen, wie meist angenommen wird; sondern trübere, saftigere Culturen sind gar nicht so selten. Ebenso finden sich Paratyphus- u. s. w. Stämme, die in sehr zarten, feinen, durchsichtigen und kleinen Colonieen wachsen.

Gewöhnliche, schwach alkalische Bouillon wird zunächst von allen Bakterien der Typhus-Coligruppe gleichmässig getrübt. Bei mehrtägigem Wachsthum jedoch zeigen sich manchmal Unterschiede. Beim Typhusbacillus und Paratyphusbacillus A bleibt die gleichmässige Trübung bestehen, während die Bakterien der anderen Gruppe sich in der Bouillon zuweilen, aber nicht immer zu kleineren oder grösseren Häufchen zusammenballen, auch wohl an der Oberfläche eine Hautbildung erkennen lassen, wie sie Conradi, v. Drigalski und Jürgens[1] für charakteristisch halten. Uns scheint dies Phänomen viel zu inconstant, um differentialdiagnostisch verwerthet werden zu können.

Ueber die Bedeutung der Lackmus-Milchzucker-Agarplatten für die Differenzirung der Bakterien unserer Gruppe sind die Ansichten sehr getheilt. v. Drigalski[2] legt ihnen grossen Werth bei und zwar nicht nur für die Trennung von Paratyphus-, Enteritis- u. s. w. Bacillen einerseits von Typhus- und Colibakterien, sondern auch für die Unterscheidung der Paratyphusbacillen Typus B von Typus A und Enteritisbacillen. Derselbe Autor behauptet nämlich, dass Paratyphusbacillen Typus B zunächst wie Typhusbacillen wachsen, dass ungefähr vom 5. Tage an die Colonieen aber ein dunkelblaues Centrum erhalten, das von einer weisslichen schleimigen Randzone umgeben ist. Die Enteritisbacillen sollen dagegen trockener wachsen und nicht die scharfe Differenzirung in zwei Zonen zeigen. Trautmann[3] konnte diese Angaben nicht bestätigen; er beobachtete, dass das schleimige Wachsthum bei ein und derselben Cultur manchmal fehlte und manchmal ausgeprägt war. Der Befund erwies sich ihm als inconstant und differentialdiagnostisch unbrauchbar.

Zu unseren vergleichenden Untersuchungen zogen wir ausser den in der Tabelle I aufgezählten Culturen über 100 sichere Typhusstämme[4] heran, da nur so ein sicheres Urtheil über die differential-diagnostische Bedeutung des Lackmus-Milchzucker-Agars bei den genannten Bakterien zu erhalten war. Die Erreger des Paratyphus B, des Mäusetyphus und der Fleischvergiftungen waren auf dem blauen Agar in 24 Stunden meist

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XLII.

[2] Koch's *Festschrift.*

[3] *Diese Zeitschrift.* Bd. XLV.

[4] Wir verdanken dieselben zum grössten Theil der Liebenswürdigkeit des Hrn. Dr. O. Lentz.



zu ziemlich grossen, saftigen Colonieen ausgewachsen, die nicht so durchsichtig waren wie Typhuscolonieen. Doch ist der Unterschied keineswegs ein markanter. Vor Allem wachsen, wie schon beim Wachsthum auf gewöhnlichem Agar erwähnt, auch sichere Typhusculturen manchmal zu trüben grösseren Colonieen aus. Es gelingt auch dem Geübten nur etwa in $^2/_3$ der Fälle eine Paratyphuscolonie mit Sicherheit von einer Typhuscolonie zu unterscheiden. Wir haben derartige Versuche, Culturen allein nach ihrem Wachthum auf dem blauen Agar zu diagnosticiren häufig wiederholt, auch andere in der Typhus- und Paratyphusdiagnose geübte Untersucher die Culturen bestimmen lassen. Immer wurde eine grössere Zahl von Fehldiagnosen gestellt.

Allerdings können bei mehrtägigem Wachsthum häufig Typhus- und Paratyphusbacillen von einander getrennt werden. Eine praktische Bedeutung kommt jedoch diesem Befunde nicht zu, denn durch eine Gährungsprobe mit Traubenzucker und durch die Agglutination können die verdächtigen Colonieen viel schneller und sicherer identificirt werden. Die Unterscheidung der Paratyphusbacillen von Enteritisbakterien ist auf dem Lackmus-Milchzucker-Agar jedoch ganz unmöglich, denn einige Vertreter beider Gruppen bilden Schleimzonen, andere wieder nicht. Ausserdem sahen wir, ebenso wie Trautmann[1], keine Constanz in dem Befunde. Die Bacillen des Paratyphus A wachsen im Allgemeinen typhusähnlich; die Mäusetyphusbacillen gleichen im Wachsthum auf der blauen Platte den Paratyphusbacillen Typus B.

Von unseren Paratyphusculturen des Typus B zeigen regelmässig ein dem Typhusbacillus gleiches Wachsthum die Stämme: Nr. 45, 51, 131, 133, 139, 140, 219, 239. Von den Fleischvergiftungsbakterien wuchs Nr. 248 typhusähnlich.

Als das bequemste und sicherste Differenzirungsmittel von Typhus- und Paratyphusbacillen erscheint uns die Gährprobe mit Traubenzucker, namentlich bei Benutzung des Rothberger'schen Neutralrothagars. Wenn man als Vorcultur den blauen Agar benutzt, der Aufschluss giebt über das Verhalten der untersuchten Cultur zu Milchzucker und dann die Traubenzuckerprobe anschliesst, hat man zur Differenzirung verdächtiger Culturen schon viel gewonnen. Alles, was den blauen Agar unverändert lässt und Traubenzucker nicht vergährt, ist typhusverdächtig, was jedoch aus Traubenzucker Kohlensäure bildet, hat sicher nichts mit Typhus zu thun. Eine Unterscheidung der Traubenzucker vergährenden Stämme, in unserem Falle der Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbacillen unter einander, ist mit dieser Probe nicht möglich.

Sämmtliche 90 Culturen der letzthin genannten Gruppe vergähren den Traubenzucker sehr stark, einerlei wie man die Probe anstellt. Wir



haben umfangreiche Vergleichsversuche mit Zuckerbouillon im Gährkölbchen, mit Zuckeragar und dem Rothberger'schen Neutralrothagar in Schüttelcultur angestellt, ohne dass sich Differenzen herausgestellt hätten. Wir können gerade den Neutralrothagar empfehlen; denn er ist leicht herzustellen und ermöglicht noch mehr Differenzirungen als der gewöhnliche Traubenzuckeragar. Es giebt nämlich eine Reihe paratyphusähnlicher Bakterien, die wohl Gas bilden, aber das Neutralroth unverändert lassen, während die Bakterien der Paratyphusgruppe ausnahmslos schon nach 24 Stunden ausser der Gasbildung eine lebhafte Fluorescenz hervorrufen.

Auf die von Barsiekow angegebenen Milchzucker- und Traubenzuckerlösungen kann man verzichten. Wir haben alle Culturen auch an dem Barsiekow'schen Nährböden geprüft, ohne davon wesentlichen Vortheil gesehen zu haben. Die Milchzuckerlösung lassen alle Bakterien der Paratyphus-, Enteritis- u. s. w. Gruppe, ebenso wie der Typhusbacillus unverändert, während sie die Traubenzuckerlösung unter starker Coagulirung erdbeerfarben verändern. Ziemlich häufig beobachtet man in dem Barsiekow-Traubenzucker Unterschiede zwischen Typhus- und Paratyphusbacillen. Die Typhusbacillen bringen den Farbenumschlag und die Coagulation zuweilen langsamer hervor als Paratyphusbacillen, doch sind das nicht essentielle, sondern nur quantitative Unterschiede in der Säurebildung.

Ein ausgezeichnetes Differenzirungsmittel für die Bakterien der Typhus-, Paratyphus-, Coli-, Dysenteriegruppe ist die 1889 von Petruschky in die bakteriologische Technik eingeführte Lackmusmolke. Sie erlaubt eine scharfe Trennung der Gruppe Paratyphusbacillus B-, Enteritis-, Mäusetyphus von Typhusbacillus und Paratyphus A-Bacillus (Bacillus paratyphosus acidumfaciens, Schottmüller). Eine Differenzirung der Paratyphusbacillen B von den Bakterien derselben Gruppe ist aber auch mit Hülfe der Lackmusmolke nicht möglich. Auch das sogen. Neunkirchener Stäbchen von v. Drigalski, das sich in seinem Verhalten zur Lackmusmolke von Paratyphusbacillen unterscheiden soll, unterzogen wir noch während der Drucklegung einer Prüfung in diesem Nährmedium, fanden jedoch keine Unterschiede gegenüber dem Paratyphusbacillus B. Vielleicht ist die Lackmusmolke, welche v. Drigalski benutzt hat, nicht einwandsfrei gewesen. Wenigstens soll ein Enteritisstamm Brügge bei ihm unter starker Säurebildung gewachsen sein, während er das bei uns nicht thut. Auch stimmt die Bemerkung, dass Paratyphusbacillen die Lackmusmolke früher bläuten als Typhusbacillen, nicht mit unseren Erfahrungen; bei uns gaben Typhusbacillen überhaupt niemals den Umschlag in Blau.



Wir stehen mit Trautmann[1], Bonhoff[2] u. A. auf dem Standpunkt, dass sich Paratyphusbacillen Typus B, Mäusetyphus- und Enteritisstämme in ihrem Verhalten zur Lackmusmolke nur quantitativ, nicht qualitativ unterscheiden. Die charakteristischen Veränderungen in diesem Nährboden sind mehrfach von Schottmüller[3], Trautmann[1] und Bonhoff[2] und Anderen vergleichenden Studien unterworfen worden. Unsere Befunde stimmen im Wesentlichen mit denen dieser Autoren überein.

Typhusbacillen lassen die Lackmusmolke klar und röthen sie; die Röthung bleibt bestehen, auch wenn man die Culturröhrchen Wochen lang bei 37° hält. Wir haben bei über 100 Stämmen keine Ausnahme von diesem Verhalten gesehen. Einige Autoren wollen nach Wochen ganz schwache Alkalibildung gesehen haben. Vielleicht ist dieser geringe Farbenumschlag nur scheinbar und auf eine erhöhte Concentration des Nährbodens zurückzuführen; denn bei dem Wochen langen Aufenthalt im Thermostaten verdunstet, wenn man die Röhrchen nicht dichtet, eine verhältnissmässig grosse Menge Wasser. Der Paratyphusbacillus A wirkt auf die Lackmusmolke genau ebenso wie Typhusbacillen. Ganz anders die Vertreter der Paratyphus B-Enteritisgruppe. Nach 24 Stunden ist die Lackmusmolke hier immer geröthet und schwach opalescirend; man kann nicht von einer eigentlichen Trübung wie bei Coliculturen reden, aber so durchsichtig wie bei Typhusbacillen bleibt die Molke nicht. Manchmal beginnt schon am zweiten Tag, in der Regel ungefähr am vierten, der Farbenton in das ursprüngliche Violett überzugehen; die Molke nimmt nun von Tag zu Tag (wir haben täglich den Farbenton möglichst exact bestimmt und protokollirt) immer mehr einen bläulichen Ton an, unter zunehmender Trübung. Meist ist am Ende der zweiten Woche ein intensives Blau erreicht. Je nach der nicht immer ganz regelmässigen Beschaffenheit des Nährbodens, der Menge des Einsaatmaterials und der Wachsthumsenergie des einzelnen Stammes tritt die Blaufärbung früher oder später ein. Manchmal bleibt die Farbe auch mehr violett, ohne in das intensive Blau überzugehen. Gründe für dies abweichende Verhalten liessen sich nicht erweisen; bei wiederholten Prüfungen zeigten die betreffenden Stämme das normale Verhalten. Es handelt sich demnach nicht um individuelle Eigenthümlichkeiten der betreffenden Culturen, sondern um andere geringfügige Umstände, vielleicht den Säuregehalt des Glases oder dergl. Lässt man die blaugefärbten Culturröhrchen länger als zwei Wochen stehen, so werden sie allmählich wieder durchsichtiger und es sammeln sich auf der Oberfläche mehr oder

[1] A. a. O.

[2] *Archiv für Hygiene.* Bd. L.

[3] A. a. O.



weniger ausgeprägte blaue Zoogloën. Gleichzeitig sinken die absterbenden Bakterien in kleineren Häufchen zu Boden.

Diese Beschreibung gilt für Paratyphusbacillen Typus B, Enteritisbakterien und Mäusetyphusbacillen.

Ebensowenig wie in der Lackmusmolke lassen sich in Milch die genannten Bakterien differenziren. Auf die charakteristischen Veränderungen, die der Paratyphusbacillus B in Milch hervorruft, hat wohl zuerst Schottmüller die Aufmerksamkeit gelenkt. Er fand, dass die Milch nie gerinnt, wohl aber nach Wochen einen gelblichen Farbenton annimmt und durchsichtig wird; gleichzeitig wird die Reaction stark alkalisch. Gerade dieser Alkalibildung schreibt Schottmüller die eigenthümliche Veränderung im Aussehen der Milch zu. Andere Autoren wollen das Durchsichtigwerden der Milch nicht gesehen haben; B. Fischer[1] andererseits giebt an, auch in alten Milchculturen des Typhusbacillus die charakteristische Aufhellung beobachtet zu haben. Trautmann und Bonhoff fanden das Durchsichtigwerden der Milch constant nicht nur bei Paratyphusculturen, sondern auch bei Mäusetyphus- und Enteritisstämmen. Wir können das Letztere bestätigen. Niemals sahen wir die Aufhellung und Alkalibildung ausbleiben. Typhus- und Paratyphusbacillen Typus A dagegen lassen die Milch dauernd äusserlich unverändert; die Reaction ist noch nach Wochen deutlich sauer.

Die Prüfung auf Indolbildung geschah in der üblichen Weise unter Heranziehung von echten Colistämmen als Controle. Unter den untersuchten Stämmen wurden keine gefunden, die Indol bildeten.

Die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Die v. Drigalski'schen Angaben, dass sich sein Neunkirchener Stäbchen durch das Wachsthum auf Gelatine von Paratyphusbacillen unterscheide, möchten wir ebenso wie das von ihm beobachtete abweichende Verhalten in Lackmusmolke als zufällige inconstante Befunde auffassen. Ebenso wie Trautmann und Bonhoff fanden auch wir keine wesentlichen Unterschiede im Gelatinewachsthum.

Damit wäre die Zahl der von uns verwandten Nährböden erschöpft. Auf weitere culturelle Untersuchungen glaubten wir verzichten zu dürfen, um so mehr, als die immunisatorischen Beziehungen der untersuchten Culturen zu der Annahme berechtigten, dass auch die Heranziehung weiterer Nährböden in der Differenzirung nicht weiter führen würde. Die Verwendung der verschiedensten Zuckerarten, die zum Theil sehr schwer rein zu bekommen sind, der Kartoffel u. dergl., liessen nach früheren eigenen

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIX. — Koch's *Festschrift.*



und zahlreichen Erfahrungen anderer Autoren ausserdem keine eindeutigen Resultate erwarten.

Es gelingt mit den oben ausführlich beschriebenen **culturellen** Methoden leicht, die von uns untersuchten Bakterien in zwei Gruppen zu sondern:

1. Typhusbacillus;
2. Paratyphusbacillus B, -Enteritis, -Mäusetyphusbakterien; hierher gehören noch die von uns nicht berücksichtigten Erreger der Hogcholera u. dergl.

Den Paratyphus A-Bacillus als eine eigene Gruppe aufzustellen, erscheint nicht geboten, da die Befunde von Paratyphus A-Bacillen zur Zeit noch viel zu vereinzelt sind, um die Aufstellung einer besonderen Gruppe zu rechtfertigen.

Für die Trennung dieser beiden Gruppen vom Colibacillus ist am geeignetsten der Lackmus-Milchzucker-Agar und die Milchprobe.

Unter einander lassen sie sich culturell sicher mit der Gährungsprobe (Neutralrothagar) und mit Milch und Lackmusmolke differenziren.

Die Zerlegung der zweiten Gruppe in ihre Vertreter: Paratyphusbacillus B, Bac. enteritidis und Mäusetyphus ist jedoch mit den gebräuchlichen culturellen Methoden unmöglich. Wir suchten daher die immunisatorischen Beziehungen dieser Culturen zu ergründen, um so zu einem System zu gelangen.

Agglutinationsversuche.

Es wurden zu den Agglutinationsversuchen Pferde- und Kaninchensera benutzt. Im Ganzen standen uns 23 Immunsera, die mit Bakterien der Typhus-Coligruppe gewonnen waren, zur Verfügung, und zwar 10 Paratyphus B-Sera, 2 Mäusetyphussera, 9 Typhussera, 1 Enteritisserum (Flügge) und 1 Paratyphus A-Serum. In Tabelle II ist eine Uebersicht über die verschiedenen Sera gegeben. Zu Controlversuchen wurden ausserdem 20 Sera von normalen Kaninchen und 4 von normalen Pferden, ferner 1 agglutinirendes Staphylokokkenkaninchenserum, 1 agglutinirendes Cholerapferdeserum und 3 agglutinirende Cholerakaninchensera herangezogen, zusammen also 29 Controlsera. Im Ganzen wurden demnach 52 Sera zu unseren Agglutinationsversuchen verwandt.

Die Herstellung der Sera geschah in der im Institut für Infectionskrankheiten gebräuchlichen Weise.

Kaninchen wurden in der Art vorbehandelt, dass ihnen in 8tägigen Intervallen 1 Oese, 3 Oesen und schliesslich 5 Oesen einer ca. 20 Stunden alten Agarcultur abgetödtet intravenös injicirt wurden. Die Culturmasse wurde in 1 bis 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 1 Stunde bei 60°



Lfd. Nr.	Art	Bezeichnung	Monovalent oder polyvalent	Nummer des zur Immunisirung verwandten Stammes	Titer	Bemerkungen
1	Paratyphus B	VI	monovalent	46	1:5000	
2	„	XVIII	polyvalent	39, 45, 46, 51, 55, 131, 133, 140, 143, 144 = 10 Stämme	1:15—20000	
3	„	Pferd I	monovalent	217	1:3000	
4	„	Kan. XXXIII	„	46	1:5000	
5	„	„ XXXIV	„	46	1:5000	
6	„	„ IL	„	238	1:2000	
7	„	„ LI	„	238	1:5000	
8	„	„ LII	„	238	1:5000	
9	„	„ XVII	polyvalent	39, 45, 46, 51, 55, 131, 133, 140, 143, 144 = 10 Stämme	1:2000	
10	„	„ XIX	„	39, 45, 46, 51, 55, 131, 133, 140, 143, 144 = 10 Stämme	1:5000	
11	Mäusetyphus	LXI	monovalent	274	1:5000	
12	„	LXII	„	274	1:5000	
13	Typhus	Pferd II	„	151	1:10000	
14	„	LXXXVII	polyvalent	12, 21, 22, 23, 34, 43, 44, 100, 112, 151 = 10 Stämme	1:10000	Stämme, die mit Paratyphus B-Serum deutlich Gruppenreaction zeigten.
15	„	XCVII	monovalent	121	1:5000	Stamm hochvirulent: $^1/_{100}$ Oese.
16	„	XCI	„	86	1:3000	„ „
17	„	XLII	„	137	1:5000	„ „
18	„	II und XIII	polyvalent	II: 1, 2, 3, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20 XIII: 21, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 34, 35, 69	1:2000	die beiden Sera wurden im Verhältniss 1:1 gemischt.
19	„	LXVI	monovalent	99	1:4000	der St. war anfängl. schwer agglutinabel.
20	„	XXXIX	„	69	1:5000	
21	„	XIII	polyvalent	21, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 34, 35, 69	1:2000	Stamm 266 von Paratyphus B-Serum hoch beeinflusst.
22	Enteritis (Flügge)	—	monovalent	266	1:1500	
23	Paratyphus A	IV	„	47	1:2000	

im Schüttelschrank gehalten. Hatte das Serum der Versuchsthiere nach drei Injectionen noch nicht den gewünschten Titer, so wurden die Dosen gesteigert: es wurden dann 6 bezw. 10 Oesen intravenös injicirt, bezw. die letzten Dosen nochmals wiederholt. Einige Paratyphusstämme erwiesen sich als so toxisch, dass mit etwas kleineren Dosen angefangen werden musste: wir begannen hier mit $^1/_4$ bezw. $^1/_2$ Oese, gingen dann zu 1, schliesslich zu 2 und im Bedarfsfalle zu 5 Oesen weiter. Mit Enteritisculturen vom Typus des Bac. enteritidis Gärtner gelang es leider nicht, brauchbare Sera zu erzielen. Selbst bei schonendster Behandlung (es wurde mit $^1/_{10}$ Oese intravenös begonnen) gingen die Thiere stets nach 4 bis 6 Wochen unter stetiger Gewichtsabnahme marantisch zu Grunde. Wohl aber konnten wir mit einem Enteritisstamm Typus Flügge ein agglutinirendes Kaninchenserum gewinnen.

Zur Herstellung der polyvalenten Kaninchensera wurde je 1 Oese der betreffenden Culturen in 10 ccm Kochsalzlösung verrieben; die Mischung wurde gut umgeschüttelt und davon der gewünschten Dosis entsprechende Mengen intravenös injicirt.

Bei den Pferden wurde die Immunisirung mit grösseren Dosen begonnen. Das Typhuspferd erhielt in 8tägigen Zwischenräumen $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 3 und endlich 6 Culturen abgetödtet intravenös. Das Paratyphuspferd musste etwas schonender behandelt werden. Es bekam zunächst $^1/_4$, $^1/_2$ und dann 1 Cultur, magerte aber danach etwas ab und wurde, nachdem es sich erholt, noch einmal mit $^3/_4$ und 1 Cultur weiter behandelt.

Auf die beschriebene Weise gelang es stets, gegen Typhus-, Mäusetyphus-, Paratyphus- und einmal gegen Enteritisbacillen vom Typus Flügge gut agglutinirende Sera zu gewinnen.

Von der Immunisirung der Thiere mit ganz kleinen Dosen haben wir Abstand genommen, da wir oft die Erfahrung gemacht haben, dass mit grossen Dosen schneller hochwerthige, gut brauchbare Sera erzielt wurden. Gelegentliche Vergleichsversuche auch mit anderen Bakterienarten zeigten, dass in der Regel der Titer des Serums nach einer einmaligen kleinen Dosis weit hinter dem durch eine einmalige grosse Dosis erzielten zurückbleibt. Die anders ausgefallenen Versuche von Friedberger[1] und Anderen sind vielleicht auf die Benutzung einer anderen Kaninchenrasse zurückzuführen.

Die Agglutinationsversuche wurden mit der schon seit Jahren im Institut für Infectionskrankheiten gebräuchlichen Methode angestellt: Eine Oese einer gut gewachsenen 20stündigen Agarcultur wird in 1 ccm einer

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1902.

mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Serumverdünnung verrieben. Die Versuchsröhrchen wurden 2 Stunden bei 37° gehalten und dann mit blossem Auge, in zweifelhaften Fällen unter Controle der Lupe untersucht. In jedem Falle wurden drei Controlen angestellt.

1. das Serum mit dem eigenen Stamm ausgewerthet,

2. jeder untersuchte Stamm in physiologischer Kochsalzlösung,

3. in normalem Serum derselben Thierart in den Verdünnungen 1:50 und 1:100 verrieben.

Mit der ersten Controle überzeugt man sich zunächst von der Brauchbarkeit des Serums, stellt eventuelle Titerabnahme fest und bestimmt den augenblicklichen Titer des Serums. Zugleich hat man aber damit auch eine gewisse Controle des benutzten Nährbodens.

Es ist uns einige Male vorgekommen, dass an einem Tage alle oder ein grosser Theil der untersuchten Culturen schlecht agglutinirt wurden. Das liess sich, da auch die Controle mangelhaft agglutinirt wurde, nur auf die Beschaffenheit des Nährbodens zurückführen. In unseren Fällen liess sich ein zu hoher Alkaligehalt des Agars als Ursache ermitteln. Ohne die Controle mit dem eigenen Stamm würde man in derartigen Fällen leicht zu falschen Schlüssen verleitet werden. Besonders die Typhusbacillen sind in ihrer Agglutinabilität sehr empfindlich gegen Schwankungen der Reaction des Nährbodens, weit weniger schon die Bacillen der Paratyphus-Enteritisgruppe. Es mag erwähnt werden, dass wir bei Choleravibrionen entsprechende Beobachtungen noch nicht gemacht haben.

Die so ausserordentlich schwankenden Angaben der Litteratur über Agglutinationsresultate bei Typhus-, Paratyphus- u. s. w. Bacillen sind wohl zum Theil auch auf die beschriebene Fehlerquelle zurückzuführen. Man sollte es sich für vergleichende wissenschaftliche Untersuchungen zur Regel machen, kein Agglutinationsresultat als beweisend anzusehen, das nicht mindestens noch einmal an einem anderen Tage nachgeprüft worden wäre. Dann würde mancher Irrthum vermieden werden! Gerade die Litteratur über Agglutinationsversuche ist reich an den widersprechendsten Versuchsergebnissen. An einem grossen Theil dieser Differenzen hat sicher die vielfach unzulängliche Methodik Schuld; auch unterlassen es manche Autoren überhaupt ganz, auf ihre Versuchstechnik einzugehen, so dass ihre Resultate sich mit denen anderer Forscher gar nicht in Vergleich setzen lassen.

So vermissen wir z. B. in der Zupnik'schen Arbeit bei seinen Agglutinationsversuchen die wichtigsten Angaben:

1. die Temperatur, bei welcher der Versuch angestellt wurde,

2. worin, ob in Schälchen oder Röhrchen,



3. wie alt die benutzten Culturen waren,

4. ob er jedes Mal Controlen mit normalen Seris und mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht hat,

5. wie die Verdünnungen gemacht und die Versuche angestellt wurden.

6. wie er seine Agglutinationseinheit berechnet.

Er führt gänzlich unnöthiger Weise eine neue Agglutinationseinheit in die Litteratur ein; er versteht unter einer Ag.-E. eine innerhalb 8 Stunden mit der Verdünnung 1:40 eintretende positive Reaction. Was er nun z. B. unter 4500 Ag.-E., einer Zahl, die in seinen Tabellen vorkommt, versteht, sagt er nirgends. Legt er seiner Berechnung die Zeit, in der die Reaction auftritt, zu Grunde, oder den Verdünnungsgrad oder beides? Im letzten Falle würde er mit der Verdünnung 1:180 000 noch eine positive Reaction erreicht haben, sicher ein merkwürdig hoher Titer für ein agglutinirendes Serum. Zupnik hat sogar mit Seris von 10 000 Ag.-E. gearbeitet und die mit derartigen Serumproben erzielten „Gruppenreactionen" setzt er in directen Vergleich mit solchen, die z. B. mit einem Serum von 120 Ag.-E. beobachtet wurden. Auf diese Weise kommen natürlich uncontrolirbare Resultate zu Stande. Vergleichende Untersuchungen, namentlich über Gruppenreactionen, haben nur dann einen Werth, wenn der Titer der Sera annähernd gleich hoch ist. Dass Krankensera zu derartigen Untersuchungen gänzlich ungeeignet sind, haben wir schon erwähnt. Die Zupnik'schen Versuche sind aber zum grössten Theil mit solchen gemacht; die künstlichen Immunsera treten in seiner Arbeit dagegen ganz zurück.

Von den Autoren, die vergleichende Untersuchungen über die Paratyphusfrage angestellt haben, weichen in der Methodik Korte[1] und Trautmann wesentlich von uns ab. Korte untersucht das Agglutinationsresultat lediglich mikroskopisch mit Oelimmersion und hält erst positive Grenzen für erreicht, wenn er 3 bis 4 Bacillen zusammenliegend antrifft. Wir halten seine Methode für sehr wenig einwandsfrei. Dasselbe gilt von der Trautmann'schen, der den Versuch mit 6 Stunden alten Bouillonculturen ansetzt und das Resultat mikroskopisch feststellt. Er giebt selbst an, dass durch Spontanagglutination viele Fehlerquellen entstanden seien. Einzelne alte Culturen, wie z. B. Enteritis Gärtner, Breslau, Haustedt erwiesen sich ihm als ganz unbrauchbar, da sie stets zusammenklumpten. Da wir mit denselben Culturen gearbeitet haben und niemals durch Spontanagglutinationen gestört wurden, möchten wir annehmen, dass die Fehlerquellen ihren Grund nicht in einer Eigenschaft der benutzten Cul-

[1] *Diese Zeitschrift* Bd. XLIV.



turen an sich, sondern in der Methodik hatten. Ausserdem hat Trautmann zum Theil Sera von sehr niedrigem Titer verwandt. Auch aus diesem Grunde lassen seine Untersuchungen vielfach im Stich.

I. Agglutination der Paratyphus B-Stämme.

Sachliche Gründe lassen es zweckmässig erscheinen, mit der Besprechung der Agglutination der Paratyphusculturen durch Mäusetyphussera zu beginnen.

Es standen uns zwei solcher Sera zur Verfügung, welche mit demselben Stamm, Nr. 274, dem virulenten Löffler'schen Mäusetyphusbacillus, an verschiedenen Kaninchen hergestellt waren. Die beiden Sera hatten gegen Mäusetyphusculturen denselben Titre; in ihrer Wirksamkeit auf Paratyphusbacillen unterschieden sie sich jedoch in gewissem Grade.

Das eine, Nr. 62, beeinflusste eine Anzahl der Culturen stärker als das Serum Nr. 61. Es ist das ein sehr interessanter Befund, der auch mit anderen Sera mehrfach erhoben werden konnte und auch von einzelnen Autoren bereits beschrieben worden ist. Zur Erklärung der Differenz zweier mit demselben Stamm an verschiedenen Thieren hergestellten Sera nimmt man im Sinne der Ehrlich'schen Theorie an, dass der Receptorenapparat der behandelten Thiere verschieden ist. Es finden einzelne agglutininerregende Gruppen nur in dem einen Thier geeignete Receptoren; dementsprechend bildet auch nur dieses Thier die entsprechenden Agglutinine aus, das andere aber nicht. Der vorliegende Fall ist ein beredtes Beispiel für eine derartige Verschiedenheit im Receptorenapparat verschiedener Thiere. Wir lassen daher die Protokolle ungekürzt folgen:

Tabelle IIIa.

Agglutination mit Mäusetyphus-Serum (Kan. 62). Titer 1:5000.

Nr.	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
36	+++	+++	+++	+++	++	+
39	+++	+++	+++	+++	+++	+
41	+++	+++	+++	++	+	—
45	+++	+++	++	—	—	—
46	+++	+++	+++	+++	+++	+
51	+++	+++	+++	+++	+++	+
55	+++	+++	+++	+++	+++	+
62	+++	+++	+++	+++	+++	+
128	+++	+++	+++	+++	+++	+
131	+++	+++	+++	+++	+++	±
133	+++	+++	+++	+++	+++	±
139	+++	+++	+++	+++	++	±



Tabelle IIIa. (Fortsetzung.)

Nr.	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
140	+++	+++	+++	+++	+++	+
143	+++	+++	+++	+++	+++	+
144	+++	+++	±	—	—	—
168	+++	+++	+++	+++	+++	±
170	+++	+++	+++	+++	+++	+
171	+++	+++	+++	+++	+++	+
172	+++	+++	+++	+++	++	—
173	+++	+++	+++	+++	++	—
174	+++	+++	+++	+++	++	+
175	+++	+++	+++	++	+	—
177	+++	+++	+++	+++	+++	+
178	+++	+++	+++	+++	+++	+
179	+++	+++	+++	+++	+++	+
180	+++	+++	+++	+++	+++	±
215	+++	+++	±	—	—	—
216	+++	+++	±	—	—	—
217	+++	+++	±	—	—	—
218	+++	+++	+	—	—	—
219	+++	+++	±	—	—	—
220	+++	+++	+	—	—	—
221	+++	+++	+	—	—	—
222	+++	+++	±	—	—	—
223	+++	+++	±	—	—	—
224	+++	+++	±	—	—	—
225	+++	+++	±	—	—	—
226	+++	+++	—	—	—	—
227	+++	+++	±	—	—	—
228	+++	+++	±	—	—	—
230	+++	+++	+++	+	±	—
231	+++	+++	+++	+++	+++	+
235	+++	+++	+++	+++	+++	±
238	+++	+++	+++	+++	+++	+
239	+++	+++	+++	+++	+++	+
240	+++	+++	+++	+++	++	±
241	+++	+++	+++	+++	+++	±
250	+++	+++	+++	+++	++	—
251	+++	+++	+++	+++	+++	—
272	+++	+++	++	+	—	—
273	+++	+++	+++	+++	+++	+
275	±	—	—	—	—	—
276	+++	+++	+++	+++	+++	+
279	±	—	—	—	—	—
282	+++	+++	±	—	—	—
283	+++	+++	+	—	—	—
284	+++	+++	±	—	—	—
285	+++	+++	+	—	—	—
286	+++	+++	+	—	—	—
287	+++	+++	+++	+++	+++	±
288	+++	+++	+++	+++	+++	+
289	+++	+++	+++	+++	++	±
290	+++	+++	+	—	—	—
291	+++	+++	±	—	—	—

Tabelle IIIb.
Agglutination mit monovalentem Mäusetyphusserum (Kaninchen 61).

Nr.	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10 000
36	+++	+++	+++	+	+	±	—	—
39	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
41	++	++	++	++	++	+	—	—
45	+	±	—	—	—	—	—	—
46	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
51	+++	+++	+++	+	+	—	—	—
55	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
62	+++	+++	+++	++	+	+	—	—
128	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
131	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
133	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
139	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
140	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
143	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
144	+++	+	±	—	—	—	—	—
168	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
170	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
171	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
172	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
173	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
174	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
175	+	+	+	+	+	+	—	—
177	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
178	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
179	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
180	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
215	+++	+++	+	—	—	—	—	—
216	+++	+++	+	—	—	—	—	—
217	+++	+++	±	—	—	—	—	—
218	+++	++	+	—	—	—	—	—
219	+++	+++	++	±	—	—	—	—
220	+++	+++	++	—	—	—	—	—
221	+++	+++	++	—	—	—	—	—
222	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
223	+++	++	+	—	—	—	—	—
224	+++	++	—	—	—	—	—	—
225	+++	—	—	—	—	—	—	—
226	+	±	—	—	—	—	—	—
227	+++	+++	+	—	—	—	—	—
228	+++	+++	±	—	—	—	—	—
230	+++	±	++	++	+	—	—	—
231	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
235	+++	+++	+++	+++	+	±	—	—
238	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
239	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
240	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
241	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
250	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
251	+++	++	+++	+++	+	—	—	—
272	+++	—	—	—	—	—	—	—
273	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
275	+++	+++	±	—	—	—	—	—
276	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
279	+	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIIb. (Fortsetzung.)

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
282	+++	+++	++	—	—	—	—	—
283	+++	+++	+	—	—	—	—	—
284	+++	+++	+	—	—	—	—	—
285	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
286	+++	+	+	—	—	—	—	—
287	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—
288	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
289	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
290	+++	±	—	—	—	—	—	—
291	+++	+++	+	—	—	—	—	—

Aus den mitgetheilten Agglutinationsversuchen geht ferner hervor, dass sich die Paratyphusculturen bei der Agglutination mit Mäusetyphussera, zumal mit dem Serum Nr. 62 in zwei verschiedene Gruppen auflösen lassen. Die eine umfasst die Stämme: Nr. 45, 144, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 272, 275, 279, 282, 283, 284, 285, 286, 290 und 291, im Ganzen 26 Culturen, welche von dem Mäusetyphussera nur in geringem Grade mit beeinflusst werden. Ihnen stehen 38 Stämme gegenüber, die bis zur Titerdosis mitagglutinirt werden und zwar die 24 Culturen: Nr. 39, 46, 128, 131, 140, 143, 168, 170, 172, 173, 174, 177, 230, 231, 235, 238, 239, 241, 250, 273, 276, 287, 288, 289 mit beiden Seris und Nr. 36, 41, 51, 55, 62, 133, 139, 171, 175, 178, 179, 180, 240 und 251, zusammen 14 deutlich nur mit dem Serum Nr. 62.

Vergleicht man die Herkunft der Culturen mit ihrem Verhalten zum Mäusetyphusserum, so ergeben sich interessante Gruppirungen. Von den Stämmen, die wir der Güte des Hrn. Dr. Lentz verdanken, wurde nur einer, Nr. 144, nicht bis zur Titerdosis agglutinirt. Die Lentz'schen Stämme sind sämmtlich in der Gegend von Idar a. d. Nahe isolirt. Im directen Gegensatz zu ihnen stehen die von Hrn. Dr. Conradi in Metz isolirten Culturen. Von ihnen wurde keine über den üblichen Grad der Gruppenagglutination (1:200) hinaus beeinflusst.

Sämmtliche vier Schottmüller'schen Culturen waren dagegen wieder durch die Agglutination nicht von Mäusetyphusbacillen zu trennen, ebenso wenig wie die Paratyphusstämme von Hrn. Prof. Dr. B. Fischer.

Nr. 272, von Hrn. Geheimrath Flügge übersandt, wurde stärker als in der Regel bei gewöhnlicher Gruppenagglutination beobachtet wird, agglutinirt, ging aber nicht bis zur Titerdosis, während Nr. 273 wie ein Mäusetyphus beeinflusst wurde.



Von den Bonhoff'schen Culturen erreichte nur eine, Nr. 276, die Werthigkeitsgrenze des Serums, Nr. 275 und 279 wurden nur bis 1:200 mitagglutinirt.

Die v. Drigalski'schen Stämme endlich werden der Mehrzahl nach nicht hoch beeinflusst; nur Nr. 287, 288 und 289 erreichen den Titerwerth des Serums.

Die naheliegende Vermuthung, dass die Gruppirung der Paratyphus B-Stämme auch in irgend einer Weise bei der Agglutination mit Paratyphusseris zu Tage treten würde, hat sich nicht bestätigt. Es wurden sämmtliche Culturen mit einem Serum ausgewerthet, das mit einem vom Mäusetyphusserum stark beeinflussten Stamm (Serum VI) hergestellt war. Alle Culturen wurden in gleicher Weise bis zur Titerdosis agglutinirt.

Dasselbe Bild gab die Agglutination mit dem Serum eines Pferdes, das mit einem vom Mäusetyphusserum nicht agglutinirten Paratyphusstamm vorbehandelt war. (Pferd I mit Nr. 217.) Bei der Wichtigkeit der Frage wurde der Versuch mit zwei weiteren Seris vom Stamm Nr. 46 und einem vom Stamm Nr. 217 an einer Auswahl der Culturen wiederholt. Stets bewegten sich die Agglutinabilitätsunterschiede der Paratyphusculturen in ganz minimalen Grenzen. Auch zwei Sera, mit einem zweiten vom Mäusetyphusserum nicht agglutinirten Stamm hergestellt, gaben analoge Resultate. Schliesslich wurde untersucht, ob sich vielleicht mit polyvalenten Seris Unterschiede ergäben. Wir stellten zu dem Zwecke ein Serum mit 10 Stämmen her; darunter 8 Stämme, die einem Mäusetyphusserum gegenüber positiv, sowie 2 Stämme, die sich demselben gegenüber negativ verhielten. Wiederum ergab die Auswerthung sämmtlicher Culturen dasselbe gleichmässige Bild. Auch zwei weitere polyvalente Sera, an einer Auswahl von Stämmen geprüft, verhielten sich gleich.

Aus der Gesammtzahl unserer Versuche mit Paratyphussera können wir den Schluss ziehen, dass der Receptorenapparat der Paratyphusbacillen vom Typus B sich gegen homologe Sera (Paratyphussera) ausserordentlich gleichmässig verhält, wenigstens treten bei der Agglutination keine Unterschiede zu Tage. Einige Beispiele mögen das erläutern.

Auch nach anderen Gesichtspunkten hin verhielten sich alle Paratyphus-Culturen gleich. So erwiesen sich hoch- und schwachvirulente Culturen als völlig gleich agglutinabel. Schwer agglutinable Stämme wurden nicht beobachtet. Das Phänomen der Agglutininresistenz frisch aus dem Menschen isolirter Bacillen konnte in einigen Fällen constatirt werden; an anderer Stelle werden wir darauf näher eingehen.



Tabelle IVa.
Agglutination mit polyvalentem Paratyphusserum (Kaninchen 18).

Nummer	Beweglichkeit	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10000	1 : 15000	1 : 20000
36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
39	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
41	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
45	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
46	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
55	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	—
62	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
128	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
131	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
138	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	—
139	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—

Tabelle IVb.
Agglutination mit Paratyphus B-Serum Nr. VI.

Nr.	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10000
36	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
39	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—
41	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
45	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
46	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
51	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
55	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—
62	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
128	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
131	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
133	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
139	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—
140	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
143	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
144	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
168	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

Tabelle IVc.
Agglutination mit Paratyphus B-Serum, Pferd (Stamm 217). Titer 1:3000.

Nr.	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 3000	NaCl.
39	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
238	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
282	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
140	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
241	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
284	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
177	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—

Tabelle IVc. (Fortsetzung.)

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:3000	NaCl.
250	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
285	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
280	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
273	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
286	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—
276	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—
275	++	++	+	+	+	—	—	—[1]
287	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—
272	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—
144	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—
217	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—
215	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
218	+++	+++	+++	+++	+++	+	±	—

[1] Verreibt sich schlecht.

Bei der Agglutination der Paratyphusbacillen mit Typhusseris fällt die Gleichmässigkeit der Beeinflussung ebenfalls in die Augen. Als Beispiel möge die Agglutination mit einem Typhuspferdeserum dienen.

Tabelle V.
Agglutination mit Typhus-Pferdeserum (Titer 1:10000).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500
276	+++	+++	+	—
279	+++	+++	+	—
282	+++	+++	++	—
283	+++	+++	++	—
284	+++	+++	±	—
285	+++	+++	+++	—
286	+++	+++	+++	—
287	+++	+++	±	—
288	+++	+++	±	—
289	+++	+++	±	—
290	+++	+++	++	—
291	+++	+++	+++	—

Wir sehen, dass in der Verdünnung 1:100 alle Stämme noch sehr stark agglutinirt werden, 1:200 meist nur noch schwach und 1:500 gar nicht mehr. Ueber 1:500 hinaus wurde niemals Agglutination beobachtet. In der Regel ist der Abfall im Grade der Agglutination von der Verdünnung 1:100 auf 1:200 sehr schroff. Das Verhältniss des Serumtiters gegen den homologen Stamm zu dem Werth der Gruppenagglutination war bei allen an Paratyphusculturen geprüften Typhussera dasselbe.

Niemals wurde ein Paratyphusstamm in der 10 fachen Titerdosis des Serums agglutinirt; sondern die Agglutination hörte stets unter diesem Werthe auf.

Wir haben aus unserer Typhussammlung 10 Stämme ausgewählt, die mit Paratyphus B-Seris am stärksten mitagglutinirt wurden. Mit diesen 10 Stämmen haben wir ein polyvalentes Kaninchenserum Nr. LXXVII von Titer 1:10000 hergestellt. Mit einem derartigen Serum hätte man am ehesten eine höhere Beeinflussung erwarten können. Aber keine Paratyphuscultur wurde höher als 1:500 mitagglutinirt. Aehnlich verhielt sich ein anderes polyvalentes Serum Nr. XIII von Titer 1 : 2000. Hier war die Agglutination sämmtlicher Paratyphusculturen bei 1:200 bereits negativ. Es gelangten noch fünf weitere Typhussera zur Untersuchung, stets mit demselben Resultat. Drei dieser Typhussera waren mit hochvirulenten Culturen ($^1/_{30}$ bis $^1/_{100}$ Oese, geprüft an Meerschweinchen bei intraperitonealer Injection) hergestellt. Da eine derartig hohe Virulenz für Typhusbacillen eine Ausnahme ist, dagegen bei Paratyphusculturen häufig beobachtet wird, hielten wir es für möglich, dass diese Typhusstämme auch in ihrem Receptorenapparat den Paratyphusbacillen ähnlich wären. Diese Vermuthung hat sich nicht bestätigt; vielmehr wurden alle Paratyphusculturen nur in der beschriebenen Weise mit beeinflusst. Die Gruppenreaction verlief stets ausserordentlich gleichmässig.

Die Mitagglutination der Paratyphusculturen von Typus B durch ein Paratyphusserum von Typus A (Titer 1:2000) ist ausserordentlich gering. Oft war nicht einmal bei 1:50 eine Beeinflussung zu sehen; bis 1:100 wurde keiner der untersuchten Stämme ausgesprochen agglutinirt.

Tabelle VI.
Agglutination mit Paratyphus A-Serum.

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	NaCl
144	±	—	—	—	—
215	++	±	—	—	—
217	+	—	—	—	—
218	++	±	—	—	—
272	++	±	—	—	—
275	±	—			
284	±	—	—	—	—
282	+	—	—	—	—
285	+	—	—	—	—
286	+	—	—	—	—

Ehe über die Beeinflussung der Paratyphusbacillen durch Enteritissera berichtet werden kann, muss kurz eine Beobachtung erwähnt werden, welche bei der Agglutination von 17 Enteritisstämmen mit Para-



typhus B- und verschiedenen Typhusserumproben gemacht wurde. Hierbei ordnen sich nämlich die von uns untersuchten Enteritisculturen in zwei Gruppen. Die Culturen der einen werden von Paratyphus B-Seris bis zur Titerdosis agglutinirt, die andern nur in ganz minimalem Maasse: 1:50 bezw. 1:100 beeinflusst. Diese durch Paratyphussera schwer beeinflussbaren werden aber auffallender Weise von Typhussera ziemlich hoch mitagglutinirt, wesentlich höher als wir das bei der gewöhnlichen Gruppenagglutination zu sehen gewöhnt sind.

Von den Enteritisstämmen dieses letzten Typus stand uns leider, wie schon erwähnt, kein Serum zur Verfügung, da die Kaninchen stets, selbst nach vorsichtigster Immunisirung marantisch eingingen, ohne ein brauchbares Serum geliefert zu haben.

Wohl aber konnten wir mit dem Enteritisstamme Nr. 266 Flügge (durch Paratyphus B-Serum hoch agglutinirt) ein agglutinirendes Serum vom Titer 1:2000 an Kaninchen herstellen, mit welchem die Paratyphusstämme ausgewertet wurden. Alle Culturen wurden in derselben Weise wie der eigene und andere Enteritisstämme beeinflusst. Eine Gruppirung der Paratypusculturen in ähnlicher Weise wie bei der Agglutination mit Mäusetyphusserum trat nicht zu Tage. (Vgl. Tabelle VII.)

Tabelle VII.

Agglutination mit Enteritisserum (Stamm 266)

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500	1:2000	1:3000
39	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
140	+++	+++	+++	++	+	±	—	—
177	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
215	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
144	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—
217	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
238	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
230	+++	+++	+++	++	+	±	—	—
218	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
272	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—
250	+++	+++	+++	++	+	±	—	—
241	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
273	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
275	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
276	+++	+++	+++	+++	++	+	+	—
282	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—
284	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
285	+++	+++	+++	++	+	±	—	—
286	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
287	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—

Um zu untersuchen, wie weit es sich bei den beobachteten Gruppenagglutinationen um solche oder etwa um Beeinflussbarkeit durch bereits in normalen Seris oder heterologen Immunseris vorhandenen Agglutininen handelt, wurden stets Controlen mit normalen Seris angesetzt.

Es wurden im Ganzen 4 normale Pferdesera und etwa 20 Kaninchensera untersucht. Kein einziger Stamm wurde bei der Verdünnung 1:50 agglutinirt, auch nicht diejenigen, die sowohl vom Paratyphus- als auch vom Mäusetyphusserum beeinflusst wurden. Mit stärkeren Concentrationen wurden keine Versuche gemacht, da sie praktisch nicht in Betracht kommen.

Eine etwas höhere Wirksamkeit entfalteten hochwerthige Immunsera, die mit anderen Bakterienarten hergestellt waren; es wurden drei Cholerakaninchensera, ein Cholerapferdeserum und ein Staphylokokkenkaninchenserum untersucht. Einige wenige Stämme zeigten durch diese Sera bei 1:50 noch geringe Beeinflussung, andere waren bei 1:50 nur unsicher und der Rest gar nicht agglutinirt. In höheren Verdünnungen blieb die Reaction stets aus.

Unsere Agglutinationsresultate mit Paratyphusbacillen weisen also in verschiedenen Punkten Abweichungen von denjenigen anderer Autoren auf. Auch sind von den meisten Forschern unserer Meinung nach wesentliche Punkte nicht scharf genug hervorgehoben worden: so die ausserordentlich gleichmässige Beeinflussbarkeit der Paratyphusculturen vom Typus B durch Paratyphussera und durch Typhussera. Wir möchten darauf besonderen Werth legen, weil sich die Paratyphusbacillen dadurch scharf von den Typhusbakterien unterscheiden, deren Receptorenapparat sich bei der Agglutination mit verschiedenen Sera wesentlich differenter erweist. Wenn Zupnik im Gegensatz zu uns z. B. bei einem Typhusserum von 5000 Ag.-E. Mitagglutination von Paratyphusbacillen bis 4500 Ag.-E., also nahezu bis zur Titergrenze, gesehen haben will, so ist das auffallende Resultat wohl seiner Methodik zur Last zu legen.

Unsere Beobachtung, dass sich Paratyphusbacillen verschiedener Provenienz Mäusetyphusseris gegenüber different verhalten, haben wir in der uns zugänglichen Litteratur nirgends erwähnt gefunden.

II. Agglutination der Mäusetyphusbacillen.

Die Agglutination der Mäusetyphusbacillen gestaltet sich womöglich noch gleichmässiger als die der Paratyphusbacillen vom Typus B.

Zunächst wurden die uns zur Verfügung stehenden vier Stämme mit den beiden Mäusetyphussera Nr. 61 und 62 ausgewerthet, ohne dass sich irgend welche Unterschiede ergeben hätten. Der hochvirulente Stamm



Nr. 274 ($^1/_{1000}$ Oese) wurde genau in derselben Weise beeinflusst wie der schwach virulente 281 und die avirulenten 246 und 280. (Vgl. VIIIa u. b.)

Tabelle VIIIa.
Agglutination mit monovalentem Mäusetyphusserum (Kaninchen 61).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000
246	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
274	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
280	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
281	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

Tabelle VIIIb.
Agglutination mit Mäusetyphusserum (Kaninchen 62).

Nr.	1:100	1:1000	1:2000	1:4000	1:5000	1:10 000
246	+++	+++	+++	++	+	—
274	+++	+++	+++	++	+	—
280	+++	+++	+++	++	+	—
281	+++	+++	+++	++	+	—

Bemerkenswerther Weise zeigten sich aber auch bei der Agglutination mit drei verschiedenen Paratyphussera keine Differenzen im Agglutinationsresultat. Die Versuche wurden mit den Sera VI, XVIII und Pferd I angestellt. Dass Serum VI die Mäusetyphusculturen agglutiniren würde, war von vornherein anzunehmen, da der Serum liefernde Paratyphusstamm 46 auch von beiden Mäusetyphussera hoch beeinflusst war. Anders war das mit dem Serum des Pferdes I, das mit dem von Mäusetyphusserum nicht beeinflussten Stamm 217 hergestellt war. Auch dieses Serum agglutinirte sämmtliche Mäusetyphusculturen bis zur Titerdosis. Wir haben also hier das nämliche interessante Ergebniss, wie bei der Paratyphusagglutination. Dort hatte sich gezeigt, dass alle Paratyphusculturen sich unter einander gleichmässig agglutiniren, dass eine Anzahl davon aber von Mäusetyphussera fast gar nicht agglutinirt wird. Aber auch Sera mit den letzten genannten Stämmen hergestellt, agglutiniren ausnahmslos alle Paratyphusculturen und, wie wir jetzt sehen, auch alle Mäusetyphusstämme. Das ist eine auffallende Thatsache. Es dürfte von grösstem Interesse sein, der Klärung dieser anscheinend sich selbst widersprechenden Beobachtung mit Ausfällungsmethoden u. dergl. näher zu treten.

Da wir den Abschluss der vorliegenden umfangreichen Untersuchungen nicht allzuweit hinausschieben wollten, hatten wir selbst noch nicht Gelegenheit, das Problem weiter zu verfolgen. An der Richtigkeit der Beobachtung selbst ist kein Zweifel, da der Versuch zu wiederholten Malen stets absolut eindeutig ausfiel.



Das polyvalente Serum XVIII gab dieselben Resultate wie die beiden monovalenten. (Vgl. Tabelle IX.)

Tabelle IX.
Agglutination mit polyvalentem Paratyphusserum (Kan. 18).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:15000	1:20000
246	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	–
274	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	±	–
280	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
281	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+

Verschiedenen Typhusserumproben gegenüber zeigten sich ebenfalls keinerlei Unterschiede in dem Grade der Agglutination. In allen Fällen zeigte sich wie bei den Paratyphusbacillen eine ausgeprägte aber nicht hochgradige Gruppenagglutination. (Vgl. Tabelle X).

Tabelle X.
Agglutination mit Typhus-Pferdeserum (Titer 1:10000).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
246	+++	+++	+	–	–	–	–
274	+++	+++	++	–	–	–	–
280	+++	+++	+	–	–	–	–
281	+++	+++	+	–	–	–	–

Es gelangten die Sera Typhuspferd, Nr. 66, 87, 91 und 99 zur Untersuchung.

Unser Paratyphus A- Serum vom Titer 1:5000 agglutinirte den Stamm 281 bis 1:100, 280 bis 1:50, die anderen beiden nicht deutlich. (Vgl. Tabelle XI.)

Tabelle XI.
Agglutination mit Paratyphus A-Serum (Titer 1:5000).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	NaCl
281	+	+	–	–	–
280	+	–	–	–	–
274	±	–	–	–	–
246	±	–	–	–	–

Das Enteritisserum, hergestellt mit Stamm 266, agglutinirte alle vier Mäusetyphusculturen annähernd gleichmässig bis zur Titerdosis. (Vgl. Tabelle XII.)



Tabelle XII.
Agglutination mit Enteritisserum (266).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500	1:2000
246	+++	+++	+++	++	+	+	—
274	+++	+++	++	++	+	+	—
280	+++	+++	++	++	+	+	±
281	+++	+++	+++	++	+	—	—

Auch über die Agglutination mit normalen und Immunsera anderer Bakterienarten ist nichts Besonderes zu bemerken. Es gilt hier alles bezüglich der Paratyphusculturen Gesagte.

Unter den mit Mäusetyphusbacillen angestellten Agglutinationsversuchen, die wir in der Litteratur fanden, sind die Bonhoff'schen besonders hervorzuheben. Dieser Autor ist zu fast denselben Resultaten gekommen wie wir. Die Differenzirung der Paratyphusstämme mit Mäusetyphusserum hat er jedoch nicht beobachtet und ist daher leicht geneigt, Mäusetyphus- und Paratyphusbacillen als vollkommen identisch anzusehen. Auffallend ist, dass ein Paratyphus A-Serum bei ihm einen Mäusetyphusstamm hoch beeinflusste. Zu erwähnen ist noch, dass Zupnik anscheinend keinen echten Mäusetyphus in Händen gehabt hat; denn sein Mäusetyphusbacillus wird von Typhussera hoch beeinflusst, was bei unseren zahlreichen Versuchen nie beobachtet wurde.

III. Agglutination der Enteritisstämme.

Wie bereits oben erwähnt wurde, lassen sich die zu unseren Untersuchungen verwandten Culturen, die uns unter der Bezeichnung Bacillus enteritidis zugingen, in zwei Gruppen sondern. Die eine Gruppe wird von Paratyphus B-Serum bis zur Titergrenze beeinflusst, die andere nur ganz minimal mitagglutinirt, dagegen von Typhussera hoch beeinflusst. Bei der Auswerthung mit Mäusetyphus- und Enteritissera ergeben sich entsprechende Resultate.

Es wurden zunächst alle Stämme mit den drei Paratyphus B-Sera Nr. VI, XVIII und Pferd I agglutinirt.

Bis zur Titerdosis wurden von diesen Sera die Stämme Nr. 259, 263, 266, 267, 268, 270, 271 agglutinirt, und zwar von den drei Sera gleichmässig. Ganz anders verhielten sich die Culturen Nr. 243, 244, 248, 249, 260, 261, 262, 264, 265, 269.[1]

[1] Der Stamm 269 (Durham) ist nach unseren Untersuchungen zur Gruppe II zu rechnen. Der von Durham in Hatton isolirte Stamm ist nach Durham's eigenen und de Nobeles Versuchen (van Ermengem, Kolle-Wassermann's *Handbuch*) zur Gruppe I gehörig. Diese Differenz ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, dass wir nicht den Stamm Hatton, sondern irgend eine andere aus Durham's Laboratorium stammende Enteritis-Gärtner-Cultur in Händen hatten.



Es möge der Einfachheit halber die erste Gruppe als Enteritis I, die zweite als Enteritis II bezeichnet werden. (Vgl. Tabelle XIII u. XIV.)

Tabelle XIII.

Agglutination mit polyvalentem Paratyphusserum (Kan. 18).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:15000	1:20000
243	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
244	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
248	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
249	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
259	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
260	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
261	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
262	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
263	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
264	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
265	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
266	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
267	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—
268	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
269	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
270	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
271	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±

Tabelle XIV.

Agglutination mit Paratyphus B-Serum St. 217.

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:3000	NaCl
243	+	+	±	—	—	—	—	
244	—	—	—	—	—	—	—	
248	+	±	—	—	—	—	—	
249	+	±	—	—	—	—	—	
259	+++	+++	+++	++	+	+	—	
260	++	+	+	—	—	—	—	
261	+	+	±	—	—	—	—	
262	—	—	—	—	—	—	—	
263	+++	+++	+++	++	+	±	—	
264	++	+	+	—	—	—	—	
265	++	+	±	—	—	—	—	
266	+++	+++	++	+	+	—	—	
267	+++	+++	++	++	+	±	—	
268	+++	+++	++	++	+	±	—	
269	++	+	±	—	—	—	—	
270	+++	+++	++	++	+	±	—	
271	+++	+++	+++	++	+	±	—	

Die Bakterien der Gruppe II wurden von Paratyphus B-Sera auffallend wenig agglutinirt. Oft war noch nicht einmal in der Verdünnung 1:50 die Reaction positiv, selbst nicht bei Verwendung des hochwerthigen polyvalenten Serums XVIII. Auch das Pferdeserum gab die gleichen Resultate.



Um so auffallender musste es erscheinen, dass gerade die Stämme dieser Gruppe II von Typhussera hoch beinflusst wurden.

Bei Benutzung von Typhuspferdeserum vom Titer 1:10000 wurden Mitagglutinationen erzielt, die bei 1:1000 oft noch sehr ausgesprochen waren, mitunter sogar bis 1:2000 hinaufgingen, wie das aus der Tabelle XV hervorgeht.

Tabelle XV.

Agglutination mit Typhus-Pferdeserum. Titer 1:10000.

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
243	+++	+++	+++	+++	++	+	—
244	+++	+++	+++	+++	++	—	—
248	+++	+++	+++	++	++	—	—
249	+++	+++	+++	+++	±	—	—
259	+++	+++	++	—	—	—	—
260	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
261	+++	+++	+++	+++	+++	±	—
262	++	++	+	+	+	±	—
263	+++	+++	++	—	—	—	—
264	+++	+++	+++	+++	+++	±	—
265	+++	+++	+++	+++	++	—	—
266	+++	++	+	—	—	—	—
267	+++	+++	+	—	—	—	—
268	+++	+++	++	—	—	—	—
269	+++	+++	+++	+++	++	±	—
270	+++	+++	+++	+	—	—	—
271	+++	+++	++	—	—	—	—

Niemals aber war die Titergrenze selbst erreicht. Dass nicht etwa die Thierart (Pferd), welche das Serum geliefert hatte, an dem eigenthümlichen Resultat schuld war, geht zur Genüge daraus hervor, dass das Paratyphuspferdeserum nahezu wirkungslos war. Zur Controle untersuchten wir noch vier normale und ein hochwerthiges Cholerapferdeserum mit dem Resultat, dass meist noch nicht einmal bei 1:50 die Reaction eintrat, dieser Verdünnungsgrad aber in keinem Falle überschritten wurde.

Typhuskaninchensera gaben analoge Ergebnisse; stets war die Beeinflussung auffallend hoch, aber niemals wurde der Grenzwerth des Serums erreicht, wie das die folgende Zusammenstellung zeigt, welche Durchschnittsresultate giebt. Die Verdünnungsgrade geben noch deutlich positive Reaction an.

Nr. des Serums	Titer	Mit-Agglutination
87	10000	1000—2000
97	5000	500—1000
91	3000	500—1000
42	5000	500—1000
2+13	2000	500
66	4000	1000



Unter diesen Sera waren, wie aus der Tabelle I hervorgeht, solche, die mit hochvirulenten Typhusstämmen hergestellt waren, monovalente und polyvalente, eins von einem anfänglich schwer agglutinabelen Stamm, also der verschiedensten Provenienz. Es muss daher die beobachtete hohe Mitagglutination als ein geradezu constanter Befund bezeichnet werden.

Im directen Gegensatz zu dieser Gruppe werden die Bakterien der Gruppe Enteritis I von Typhussera nur in der Höhe der gewöhnlichen Gruppenagglutination beeinflusst.

Sie verhalten sich in dieser Hinsicht genau wie Paratyphus und Mäusetyphusbacillen. Als Beispiel möge die Agglutination mit dem Typhuspferdeserum dienen (Tab. XV). Ausser diesem wurden noch drei Kaninchensera untersucht.

Mit den beiden Mäusetyphussera konnten dieselben Gruppen getrennt werden, wie mit den Paratyphus B-Sera. (Vgl. Tabelle XVI.)

Tabelle XVI.
Agglutination mit monovalentem Mäusetyphusserum (Kaninchen 61).

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
243	+	+	+	−	−	−	−	−
244	±	−	−	−	−	−	−	−
248	+	+	±	−	−	−	−	−
249	+	+	−	−	−	−	−	−
259	+++	+++	+++	+++	++	+	−	−
260	+	−	−	−	−	−	−	−
261	+	+	±	−	−	−	−	−
262	−	−	−	−	−	−	−	−
263	+++	+++	+++	+++	+++	++	−	−
264	±	±	−	−	−	−	−	−
265	+	−	−	−	−	−	−	−
266	+++	+++	+++	+++	++	±	−	−
267	+++	+++	+	−	−	−	−	−
268	+++	+++	+	−	−	−	−	−
269	+	−	−	−	−	−	−	−
270	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	−
271	+++	+++	+++	++	++	+	−	−

Die Gruppe II wurde von den Sera vom Titer 1:5000 bis 1:50 ± höchstens 1:100 ± mitagglutinirt. Die Bakterien der Gruppe I dagegen verhielten sich ganz wie Paratyphusbacillen. Auch insofern besteht eine Analogie zwischen diesen beiden Bakterienarten, dass wie beim Paratyphus B auch bei den Enteritis I-Bacillen sich in der Agglutination mit Mäusetyphussera Unterschiede ergeben.

Die Stämme Nr. 267 und 268 werden nämlich nur in dem Grade einer ausgesprochenen Mitagglutination beeinflusst, während die anderen Bakterien unserer Gruppe bis zur Titerdosis hinaufgehen.

Das mit Stamm Nr. 266 hergestellte **Enteritisserum** verhielt sich ganz wie ein Paratyphusserum. (Vgl. Tabelle XVII.)

Tabelle XVII.
Agglutination mit Enteritisserum St. 266.

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500	1:2000
243	±	—	—	—	—	—	—
244	—	—	—	—	—	—	—
248	+	±	—	—	—	—	—
249	++	+	+	—	—	—	—
259	+++	+++	+++	++	+	+	±
260	+	—	—	—	—	—	—
261	+	—	—	—	—	—	—
262	—	—	—	—	—	—	—
263	+++	+++	+++	++	+	±	—
264	+	—	—	—	—	—	—
266	+++	+++	+++	++	+	+	—
265	+	—	—	—	—	—	—
267	+++	+++	++	+	+	±	—
268	+++	+++	+++	++	+	±	—
269	—	—	—	—	—	—	—
270	+++	+++	++	+	+	+	+
271	+++	++	++	++	+	+	—

Das Enteritisserum agglutinirte die Bakterien der Gruppe Enteritis I bis zur Titerdosis und hatte auf die der zweiten Gruppe nur eine ganz minimale Wirkung. Einzelne Stämme wurden nicht einmal bei 1:50 agglutinirt, wie das aus der Tabelle zu ersehen ist.

Dem **Paratyphus A-Serum** gegenüber verhielten sich die Enteritisstämme ähnlich wie Paratyphusculturen vom Typus B. Meist war die Gruppenagglutination sehr gering.

Die Controlen mit **normalen** und **Immunsera anderer Bakterienspecies** wurden in demselben Umfange wie oben angestellt und zeigten niemals eine über 1:50 hinausgehende Agglutination.

Es soll hier noch kurz erwähnt werden, dass die Virulenz und Pathogenität der untersuchten Enteritisstämme in keinem Verhältniss zu ihrer Agglutinabilität mit den verschiedenen Sera steht (vgl. Tabelle XVII), im anderen Theile unserer Arbeit wird darauf noch zurückzukommen sein.

Zu der interessanten Gruppe Enteritis II gehört gerade der echte Bac. enteritidis Gärtner, der uns in drei Exemplaren vorlag, die sich in ihrer Agglutinabilität ganz gleich verhielten. Das Auffallendste bei dieser Gärtnergruppe ist die hohe Mitbeeinflussung durch Typhussera, die auch bereits von einer Anzahl anderer Autoren beobachtet worden ist. Diese hohe Mitagglutination ist besonders noch bemerkenswerth, da nicht etwa



die betreffenden Stämme besonders leicht agglutinabel sind. Im Gegentheil: die Mitagglutination durch Paratyphussera ist meist geringer als z. B. die der Typhusbacillen. Und dabei sind die Enteritis-Gärtnerbacillen morphologisch und culturell nicht von Mäusetyphus- und Paratyphus-B-Bacillen zu trennen! Die Gruppe I der Enteritisbacillen lässt sich morphologisch und culturell nicht von Paratyphus B unterscheiden und auch mit Agglutinationsversuchen ist eine Differenzirung nicht möglich.

Nachdem zuerst Gaffky, Paak und Gärtner auf den bakteriellen Ursprung der Fleischvergiftungen hingewiesen haben, ist eine ausgedehnte Litteratur über diesen Gegenstand erschienen und es sind die verschiedensten Versuche unternommen, die Bakterien dieser Krankheitsgruppe nach bestimmten Merkmalen in ein System zu bringen und von anderen Krankheitserregern abzugrenzen, ohne dass diese Untersuchungen bisher zu einem übereinstimmenden Ergebniss geführt hätten.

Unsere Untersuchungen haben im Wesentlichen die alte Gruppirung, wie wir sie de Nobele[1] verdanken, bestätigen können; auch Trautmann ist zu ähnlichen Resultaten gelangt. Erst nach Abschluss unserer Versuche konnten wir auch die Culturen „Düsseldorf" von Trautmann und das Neunkirchener Stäbchen, welches wir der Liebenswürdigkeit des Hrn. Stabsarzt Dr. Bischoff verdanken, prüfen. Beide Stämme verhielten sich culturell und immunisatorisch wie die Vertreter der Gruppe I der Enteritisbacillen.

de Nobele trennte scharf die Gruppe des Bac. enteritidis Gärtner von der des Enteritisstammes Aertryck (Nr. 270 unserer Sammlung). So weit wir mit denselben Culturen gearbeitet haben wie er, konnten wir die einzelnen Stämme auf Grund unserer Agglutinationsversuche in die nämlichen Gruppen einreihen. Die Bacillen seiner Gärtnergruppe wurden von Typhussera hoch beeinflusst, doch niemals bis zur Titergrenze. Stets konnte er bei quantitativem Arbeiten Typhus- und Enteritisbacillen durch die Agglutination trennen. Wir können seine Angaben in jeder Richtung bestätigen.

Im Grossen und Ganzen kommt Trautmann zu denselben Resultaten, er stellt als den Hauptvertreter der einen Gruppe den Bac. enteritidis Gärtner auf und nennt die anderen die Breslauer Gruppe. Im Gegensatz zu uns konnte er jedoch bei der Agglutination von Paratyphusbacillen Typus B mit Enteritisserum vom Breslauer Typus quantitative Unterschiede beobachten, die ihn veranlassen, die Paratyphus B-Gruppe (Hamburg) von den Flügge'schen Enteritisstämmen zu trennen.

[1] Kolle-Wassermann's *Handbuch*. van Ermengem.



Er hebt aber selbst hervor, dass sich seine Gruppe Hamburg und Breslau (Flügge) sehr nahestehen und die Agglutinationsdifferenzen nur geringe waren. Wir haben, wie oben ausgeführt, keinerlei Unterschiede in der gegenseitigen Beeinflussung von Paratyphus B- und Enteritis Breslau-Bacillen beobachten können, so dass man auch im Hinblick auf die sich gänzlich gleichenden culturellen Merkmale die beiden Bakterienarten für identisch halten kann.

Zu einer anderen Gruppirung gelangt v. Drigalski[1]:

Gruppe I: Gent, Brügge, Rumfleth.

„ II: Flügge, Gärtner und Neunkirchen; diesen nahestehend Antryck, dem wieder Hogcholera und schliesslich Paratyphus B.

Seine erste Gruppe deckt sich im Wesentlichen mit unserer. Sehr auffallend ist jedoch, dass der Bac. enteritidis Gärtner bei ihm in der Flügge'schen Gruppe rangirt. Ein mit ihm hergestelltes Serum beeinflusste den Flügge'schen Stamm bis zur Titerdosis; von Typhussera wurde sein Enteritis-Stamm Gärtner nicht beeinflusst. Es lässt sich das wohl nur so erklären, dass v. Drigalski nicht den echten Gärtner'schen Stamm in Händen gehabt hat, um so mehr als wir drei Culturen mit der Bezeichnung Enteritis Gärtner zur Verfügung hatten und mit allen dreien die nämlichen Resultate erzielten. Einen Stamm verdankten wir der Liebenswürdigkeit von Hrn. Prof. Gärtner selbst, einen fanden wir in unserer Laboratoriumssammlung vor und den dritten übersandte uns Hr. Prof. van Ermengem. Wie Trautmann, beobachtete auch v. Drigalski zwischen Paratyphus B und Enteritisstämmen vom Flügge'schen Typus nur hohe gegenseitige Beeinflussungen, ohne dass die Titergrenze erreicht worden wäre. Die Agglutinationsversuche beider Autoren hatten aber vielfach unter Spontanagglutination zu leiden; auch in der Methodik weicht wenigstens Trautmann stark von uns ab (er arbeitete mit 6 Stunden alten Bouillonculturen und stellte das Resultat mikroskopisch fest), so dass die Differenzen sich wohl daraus erklären lassen können.

Bonhoff neigt dazu, auf Grund seiner Agglutinationsversuche Paratyphus B, Mäusetyphus und Enteritis-Bacillen Gärtner für identisch zu halten. Da Gärtner seine Bacillen beschrieben hat, ehe man Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen kannte, so schlägt Bonhoff vor, alle drei Bakterienarten als Enteritis Gärtner zu bezeichnen. Es scheint aber, dass er ebenso wenig wie v. Drigalski den echten Bac. enteritidis Gärtner in Händen gehabt hat.

[1] *Festschrift zum 60. Geburtstage R. Koch's.*



Wir wollen es unterlassen, aus den culturellen Untersuchungen und Agglutinationsversuchen allein Schlüsse auf die Stellung der geprüften Bakterienarten zu einander zu ziehen; sondern werden erst am Schluss der Arbeit unter Berücksichtigung der Ergebnisse noch weiterer Immunitätsprüfungen auf diese Frage näher zurückkommen.

IV. Agglutinationsversuche mit Paratyphus A-Bacillen.

Der Vollständigkeit wegen mögen hier einige Agglutinationsversuche Platz finden, welche mit den als Paratyphus A-Bacillus beschriebenen Bakterien angestellt wurden. Die Paratyphus A-Bacillen wurden ausserordentlich selten gefunden; so konnten sie z. B. bei den unzähligen Untersuchungen, die auf den Typhusstationen im Westen des Reiches ausgeführt wurden, niemals constatirt werden. Auch die Schottmüller'schen Fälle sind ganz vereinzelt geblieben; es ist ihm in den letzten Jahren nicht gelungen, wieder einen Paratyphus A aufzufinden. Kayser[1] steht wohl mit seiner Meinung, dass dem Paratyphus A eine grosse Bedeutung zukomme, ziemlich isolirt.

Es standen uns fünf Culturen zur Verfügung, die unter sich selbst identisch sind: sie wurden von einem mit dem Stamm Nr. 47 hergestellten Serum alle gleichmässig beeinflusst. (Vgl. Tabelle XVIII.)

Tabelle XVIII.

Agglutination mit Paratyphus A-Serum.

Nummer	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500	1:2000	1:3000	1:5000	1:10000
47	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	−
237	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	−
245	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	−
277	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	−
278	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	−

Im Gegensatz dazu will Zupnik, der zum Theil mit denselben Culturen gearbeitet hat wie wir, grosse Unterschiede gesehen haben. Ein A-Serum von 1000 Ag.-E. agglutinirte nach seinen Angaben andere A-Stämme nur bis 160 bezw. 200 Ag.-E. Dass die Zupnik'schen Versuche der Kritik nicht Stand halten, ist oben bereits ausführlich dar-

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1904.



gelegt. Brion-Kayser u. A. stimmen vollkommen mit uns überein, dass die Paratyphusbakterien des Typus A eine einheitliche Gruppe darstellen.

Gegen andere ähnliche Bakterienarten lassen sie sich gut abgrenzen. Wir wertheten drei Paratyphus B-Sera gegen sie aus mit dem Resultat, dass die Mitagglutination eine äusserst geringe war. Dasselbe Bild gaben Mäusetyphussera und ein mit dem Enteritisstamm Nr. 266 erzeugtes Serum. (Vgl. Tabelle XIX.)

Tabelle XIX.
Agglutination mit Enteritisserum (St. 266).
Titer 1:2000.

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	NaCl
47	+	±	—	—	—
237	+	+	—	—	—
245	+	±	—	—	—
277	±	—	—	—	—
278	±	—	—	—	—

Oft war noch nicht einmal in der Verdünnung 1:50 die Reaction positiv; über 1:100 ging sie niemals hinaus. Die benutzten Sera hatten einen Titer von 1:2000 bezw. 1:5000 und 10000. Bruns u. Kayser[1], Korte, Trautmann, Bonhoff u. A. kamen zu entsprechenden Ergebnissen.

Von Typhussera wurden die Paratyphus A-Stämme ebenfalls nur wenig beeinflusst. Unser hochwerthiges Pferdeserum (1:10000) agglutinirte sie nicht über 1:200 hinaus. (Vgl. Tabelle XX.)

Tabelle XX.
Agglutination mit Typhus-Pferdeserum.

Nr.	1:50	1:100	1:200	1:500	NaCl
47	+++	++	+	—	—
237	++	±	—	—	—
245	+++	++	±	—	—
277	+++	+++	+	—	—
278	+++	+	—	—	—

Unsere Agglutinationsversuche mit Paratyphus A-Bacillen bestätigen also vollkommen die Angaben der oben citirten Autoren.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XLIII.



V. Virulenz und Pathogenität des Paratyphus B.

Ueber die Virulenz und die Pathogenität des Paratyphusbacillus Typus B sind systematische Untersuchungen in grösserem Umfange bisher nicht angestellt worden. Es finden sich in der Litteratur nur gelegentlich vereinzelte verstreute Bemerkungen hierüber.

So berichtet Kurth[1] von seinen bei einigen Paratyphusfällen in Bremen gezüchteten Bakterien über eine Virulenz von $^1/_{200}$ Oese für Meerschweinchen bei intraperitonealer Infection. Hitzebeständige Toxine konnte Kurth nicht nachweisen.

Hünermann[2] stellte fest, dass die Virulenz des gelegentlich der Saarbrückener Paratyphusepidemie gefundenen Stäbchens für Kaninchen bei intraperitonealer Infection $^1/_{10}$ Oese betrug.

Conradi, v. Drigalski und Jürgens[3] theilen mit, dass die Virulenz derselben Saarbrückener Bakterien für Meerschweinchen von 250^{grm} Körpergewicht intraperitoneal durchschnittlich $^1/_{30}$, höchstens $^1/_{45}$ Normalöse betragen habe. Kaninchen von ca. 1600^{grm} Gewicht gingen nach intravenöser Injection von $^1/_4$ bis $^1/_2$ Oese in 20 bis 48 Stunden ein. Hühner erwiesen sich selbst gegen grosse Dosen bei intramusculärer Einspritzung refractär. Mittels Chloroformdämpfen abgetödtete Culturen waren für Meerschweinchen nicht toxisch, ebenso in Gazesäckchen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen gebrachte vorher sterilisirte Culturen.

Korte[4] fand seine in Breslau von zwei Fällen von Paratyphus isolirten Bakterien vom Typus B schon in geringen Mengen ($0 \cdot 03^{\mathrm{ccm}}$ 24 stündiger Bouilloncultur) vom Subcutangewebe aus für Mäuse hochvirulent. Noch nach 7 Monaten hatten die Bakterien auf künstlichen Nährböden ihre Virulenz bewahrt. Durch Abtödtung bei 56° sterilisirte Culturen waren für Mäuse nicht toxisch. Verfütterungsversuche an Mäusen und Meerschweinchen fielen negativ aus; ebenso wenig liess sich durch dieselben eine Immunisirung der Thiere herbeiführen.

Des Weiteren theilt B. Fischer[5] mit, dass von einem gelegentlich einer Kieler Paratyphusepidemie gezüchteten Stamm bereits $^1/_{1000}$ Normalöse intraperitoneal Meerschweinchen getödtet hätte. Dieselbe Virulenz habe ein aus einer Epidemie in Futterkamp von demselben Autor isolirter Stamm besessen.

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 30 u. 31.
[2] *Diese Zeitschrift.* 1902.
[3] *Ebenda.* 1903. Bd. XLII.
[4] *Ebenda.* Bd. XLIV.
[5] *Festschrift zum 60. Geburtstage R. Koch's.*



Bonhoff[1] konnte durch Verfütterung von Paratyphusbakterien weisse Mäuse tödtlich inficiren. Bei einer Wiederholung seines Versuchs gelang ihm dieses allerdings nicht wieder einwandsfrei, so dass er selbst die Möglichkeit einer Verwechselung seines Stammes mit virulentem Mäusetyphus offen lässt. Seine Paratyphusstämme genügten bei intraperitonealer Infection in minimaler Menge (keine nähere Angabe), um Meerschweinchen zu tödten. Bei der Section der Thiere fand sich fast stets als charakteristisches Merkmal eine braune Verfärbung der Nebennieren. Hitzebeständige Toxine seiner Culturen konnte Bonhoff bei seinen Versuchen scheinbar nachweisen; jedoch sind in diesem Falle seine Versuchsergebnisse insofern nicht ganz einwandsfrei, als in vier Fällen von sechs nach der Injection gekochter Culturen gestorbenen Thieren noch lebende Paratyphusbakterien durch das Culturverfahren in dem Thierkörper nachgewiesen werden konnten.

Ausser einigen Bemerkungen über die Virulenz der Paratyphusbakterien in der englischen und amerikanischen Fachlitteratur, die uns zum grössten Theil nur in Referaten zugänglich waren, und einer neuerdings veröffentlichten Mittheilung von Smidt[2], der zu Folge es ihm mehrfach gelungen sei, weisse Mäuse durch Verfüttern von Paratyphusbakterien tödtlich zu inficiren, und von Shibayama[3], welcher die Virulenz japanischer Paratyphusstämme Typus B für Meerschweinchen intraperitoneal auf $^1/_4$ bis $^1/_{10}$ Normalöse feststellte, sind unseres Wissens umfangreichere Untersuchungen über die Virulenz und Pathogenität der Paratyphusbakterien nicht veröffentlicht worden.[4] Es schien deshalb wünschenswerth, diese Verhältnisse an einem grösseren Material zu untersuchen, zumal da namentlich hinsichtlich der Infectiosität mittels Verfütterung für Mäuse und der Hitzebeständigkeit der Toxine der Paratyphusbakterien bisher bei verschiedenen Autoren abweichende Befunde erhoben waren. Die zu unseren Versuchen verwandten Stämme und ihre Herkunft sind bereits bei den Mittheilungen über die systematischen Agglutinationsversuche erörtert worden. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen waren folgende:

Der Paratyphusbacillus Typus B zeigt eine entschieden bedeutend höhere Virulenz für unsere gewöhnlichen Laboratoriumsversuchsthiere als der Eberth-Gaffky'sche Typhusbacillus. Am virulentesten erweist er

[1] *Archiv für Hygiene.* 1904.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVIII.

[3] *Ebenda.* Bd. XXXVIII.

[4] Vagedes (*Klin. Jahrbuch*, 1905, Hft. 14) berichtet neuerdings noch über bei einer Mehlspeisenvergiftung von ihm isolirte Paratyphus B-Bakterien, welche in der Dosis von $^1/_{100}$ Oese intraperitoneal für Meerschweinchen noch virulent waren. Mäuse und Meerschweinchen gingen nach Verfütterung ein, ebenso Tauben nach intravenöser und intramusculärer Impfung. Die gen. Bakterien besassen hitzebeständige Toxine.



sich für Meerschweinchen bei intraperitonealer Infection. Abgesehen von einigen vereinzelten fast avirulenten Stämmen welche jedoch als entschiedene Ausnahmen zu betrachten sind, fanden sich von sämmtlichen bei unseren Untersuchungen auf ihre Virulenz für Meerschweinchen geprüften 64 Paratyphusstämmen nur wenige (7), bei denen diese unter $^1/_{500}$ Normalöse für Meerschweinchen von 250 grm Körpergewicht bei intraperitonealer Infection lag. Bei den weitaus meisten Stämmen betrug die Virulenz mindestens $^1/_{1000}$ und bei einer grösseren Anzahl sogar nur $^1/_{10000}$ Normalöse. Eine ausserordentlich hohe Virulenz zeigten 3 Stämme mit $^1/_{50000}$, und 4 Stämme mit $^1/_{100000}$ Normalöse. Virulenzunterschiede zwischen von Mäusetyphusserum stark und gering agglutinirten Stämmen (vgl. S. 323) traten nicht zu Tage. Zur Prüfung wurden stets 24 stündige bei 37° gewachsene Agarculturen verwandt.

Durch diese ausserordentlich hohe Virulenz für Meerschweinchen bei intraperitonealer Infection unterscheiden sich die Paratyphusbakterien des Typus B schon in den weitaus meisten Fällen vom Paratyphus A, dessen Virulenz, an 5 Stämmen geprüft, nach unseren Untersuchungen $^1/_{10}$ Oese niemals überstieg, und vom Eberth-Gaffky'schen Typhusbacillus, bei welchem dieselbe bei gleichen Prüfungsbedingungen (ca. 150 Stämme) zuweilen $^1/_{20}$ bis $^1/_{30}$ Normalöse erreichte. Als Ausnahme muss es geradezu betrachtet werden, wenn man Typhusculturen, wie es bei unserer grossen Sammlung 2 Mal gelungen ist, von $^1/_{100}$ Normalöse Virulenz für Meerschweinchen findet. Auf diese Virulenzverhältnisse bei Typhus wird von uns in einer späteren Veröffentlichung noch des Näheren eingegangen werden.

Eine Uebersicht der Virulenzprüfungen der einzelnen Paratyphusstämme bei intraperitonealer Infection für Meerschweinchen von 250 grm Körpergewicht ist in der nebenstehenden Tabelle XXI zusammengestellt.

Tabelle XXI.

Virulenz der Paratyphusstämme Typus B bei intraperitonealer Infection für Meerschweinchen von 250 grm Körpergewicht.

Lfd. Nr.	$^1/_5$	$^1/_{10}$	$^1/_{50}$	$^1/_{100}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{10000}$	$^1/_{50000}$	$^1/_{100000}$	$^1/_{200000}$ Normalöse
36						†	† 0			
39						†	0			
41						†	0			
45						†	0			
46						†	0			
51					†	0				
55					†	0				
62				†	0					
128			†	0						
131					†	0				
133					†	0				
139					†	0				

Tabelle XXI. (Fortsetzung.)

Lfd. Nr.	1/5	1/10	1/50	1/100	1/500	1/1000	1/10 000	1/50 000	1/100 000	1/200 000	Normalöse
140							†	0			
143						†	0				
144					†	0					
168					†	0					
170						†	0				
171							†	0			
172						†	0				
173						†	0				
174						†	0				
175					†	0					
177						†	0				
178						†	0				
179						†	0				
180						†	0				
215							†	0			
216						†	0				
217						†	0				
218						†	0				
219							†	0			
220				†	0						
221						†	0				
222					†	0					
223							†	0			
224						†	0				
225							†	0			
226						†	0				
227					†	0					
228							†	0			
230	0										
231							†	0			
235		†	0								
338						†	0				
239					†	0					
240								†	0		
241								†	0		
272					†	0					
273									†	0	
275									†	0	
276							†	0			
277		0									
278					†	0					
279		0									
282						†	† 0				
283									†	0	
284						†	† 0				
285						†					
286						†	0				
287								†	0		
288						†	0				
289									†	0	
290						†	0				
291							†	0			

Der Verlauf der künstlichen intraperitonealen Paratyphusinfection beim Meerschweinchen gestaltet sich etwa folgendermaassen. Schon kurze Zeit nach der Einbringung lebender Paratyphusbakterien in die Peritonealhöhle lässt sich selbst bei Anwendung geringer Bakterienmengen eine deutliche Vermehrung der äusserst lebhaft beweglichen Bakterien im Peritonealexsudat feststellen. Die Thiere erliegen fast ausnahmslos innerhalb 24 Stunden unter starken Collapserscheinungen (Temperaturerniedrigung, Kühle der Extremitäten) der Infection. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei den acut zu Grunde gegangenen Thieren bestehen bei sehr schnellem Verlauf (8 bis 10 Stunden) in einer ausgesprochen serösen, bei langsamerem Verlauf (1 Tag) einer eitrig-fibrinösen Peritonitis, fettigen Degeneration des Herzmuskels und häufig in einer Schwellung und Braunfärbung der Nebennieren. Der letztere Befund bestätigt die oben erwähnte Beobachtung von Bonhoff. In dem Peritonealexsudat, den inneren Organen und im Herzblut lassen sich regelmässig die Bakterien unmittelbar nach dem Tode des Thieres mikroskopisch und culturell in bedeutender Menge nachweisen. Es hat also zweifellos eine Vermehrung der Bakterien in demselben stattgefunden. Der culturelle Nachweis geschah stets durch Ausstrich von steril entnommenem Organsaft bezw. Herzblut auf Lackmus-Milchzucker-Agarplatten. Identificirt wurden die Bakterien durch die Agglutinationsprobe mittels hochwerthigen specifischen Serums und culturell. Auch bei Thieren, welche in schwer krankem Zustande getödtet worden waren, gelang es wiederholt, die Bacillen aus dem Herzblut zu züchten. Es handelt sich hier also um eine als Septicämie aufzufassende Infection, bei welcher die Verhältnisse von derjenigen der künstlichen Infection der Versuchsthiere mit Typhusbacillen[1] doch insofern erheblich verschieden sind, als sich bei letzterer nur bei Einführung verhältnissmässig grosser Mengen von Bakterien eine beschränkte Vermehrung derselben im Thierkörper, also eine Infection im eigentlichen Sinne des Wortes nachweisen lässt. Bei der künstlichen Paratyphusinfection der Versuchsthiere dagegen genügen unter Umständen schon wenige Bakterien zu einer ausgesprochenen Infection mit Vermehrung derselben im Blut und den inneren Organen.

Auch vom Subcutangewebe aus erweisen sich die Paratyphusbakterien für Meerschweinchen als infectiös. Die in schwach alkalischer Bouillon aufgeschwemmten Bakterien verursachen an der Injectionsstelle ein ziemlich ausgedehntes, festes und schmerzhaftes Infiltrat, welches nach 8 bis 10 Tagen beginnt, eitrig einzuschmelzen. Im Abscesseiter finden sich, culturell und mikroskopisch nachweisbar, zahlreiche Paratyphusbakterien. Nach dem spontanen Durchbruch des Abscesses, dessen Ränder sich

[1] Vgl. Pfeiffer und Kolle, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXI. S. 203.



in der Regel stark gewulstet und infiltrirt zeigen, scheinen sich die Thiere wieder etwas zu erholen, gehen aber später doch an Paratyphussepticämie zu Grunde. So starb ein Meerschweinchen von 300 ^{grm} Körpergewicht, das $^{1}/_{2}$ Oese Paratyphus 140 erhalten hatte, nach 10 Tagen, ein weiteres Thier, welchem $^{1}/_{10}$ Oese desselben Stammes (Virulenz $^{1}/_{10000}$ Oese) injicirt war, nach 33 Tagen; ferner hatte $^{1}/_{100}$ Oese dieses Paratyphusstammes ein Meerschweinchen von 250 ^{grm} Gewicht noch nach 41 Tagen getödtet. Bei einigen andern ebenfalls auf Virulenz vom Subcutangewebe aus geprüften Paratyphusstämmen lag dieselbe zwischen $^{1}/_{20}$ und $^{1}/_{50}$ Oese. Die Section ergab in allen diesen Fällen, wo die Thiere stets ausserordentlich abgemagert waren, ausgedehnte, starke schwartige Verwachsungen der Injectionsstelle mit der Umgebung, namentlich den unterliegenden Geweben. Die Milz war etwas geschwollen und leicht zerreisslich, die Nebennieren zeigten in den meisten Fällen deutliche Braunfärbung und in einem Falle nur Schwellung. Besonders auffallend waren in drei Fällen langsam verlaufender Infection erbsen- bis bohnengrosse, käsige und in eitriger Einschmelzung begriffene nekrotische Herde (Infarkte) der Leber. Das Organ war im übrigen sehr blutreich und leicht geschwollen. Im Herzblut, den innern Organen (Milz, Nieren), sowie dem Eiter der Leberherde waren mikroskopisch und culturell Paratyphusbacillen nachweisbar.

Von zwei andern Meerschweinchen, welche mit 1 bezw. $^{1}/_{4}$-Normalöse des virulenten Paratyphus 140 von einer Hauttasche der Bauchhaut aus inficirt worden waren, ging eins (1 Oese) nach 37, das andere ($^{1}/_{4}$ Oese) nach 45 Tagen unter den nämlichen Erscheinungen zu Grunde. (Cultureller Nachweis von Paratyphusbakterien im Herzblut und den inneren Organen). Auch hier fanden sich die für die langsam verlaufende Paratyphusinfection charakteristischen, schon erwähnten nekrotischen Herde in der Leber, sowie in einem Falle deutliche Schwellung und Braunfärbung der Nebennieren. Durch diese verhältnissmässig hohe Infectiosität vom Unterhautbindegewebe aus unterscheidet sich, wie schon betont, der Paratyphusbacillus nicht unerheblich vom Typhusbacillus. Während bei letzterem nach den bisher bekannt gewordenen Untersuchungen verhältnissmässig sehr grosse Mengen von Bakterien dazu gehörten, um durch Giftwirkung schliesslich die Thiere (Meerschweinchen, Mäuse-Petruschky) zu tödten, genügen beim Paratyphus B schon verhältnissmässig geringe Bakterienmengen. Bemerkt sei hierzu, dass sich unter unsern Typhusculturen neuerdings auch einige Stämme fanden, welche schon in ebenfalls geringerer Menge vom Subcutangewebe aus für Meerschweinchen virulent waren. Immerhin scheint letzteres Vorkommniss aber beim Typhus sehr selten zu sein. Unsere Untersuchungen hierüber konnten wegen Mangels an Thieren noch nicht abgeschlossen werden.



Es lag nun nahe, bei dieser erheblichen Pathogenität der Paratyphusbacillen für Meerschweinchen vom Peritoneum und Subcutangewebe aus zu versuchen, ob es gelänge, die Thiere durch Verfütterung mit lebenden Paratyphusbacillen tödtlich zu inficiren.

10 Meerschweinchen (250 grm Körpergewicht) erhielten, nachdem sie 1 Tag gehungert hatten, drei Erlenmeyerkölbchen 24 Stunden bei 37° gewachsene Bouillonculturen (Stamm Nr. 140) mit Rübenschnitzeln und Hafer vermischt.

Diese Versuche fielen indess bisher durchgängig negativ aus, es ergab sich jedoch bei ihnen eine andere wichtige Thatsache, welche wir hier sogleich kurz erwähnen wollen, nämlich dass es regelmässig gelang, Meerschweinchen durch Verfütterung activ gegen Paratyphus zu immunisiren. Hierüber wird weiter unten bei der Besprechung der activen Immunität näher berichtet werden.

Weitere Virulenzversuche mit Paratyphus wurden an weissen Mäusen angestellt. Es zeigte sich hier, ähnlich wie bei Meerschweinchen, eine hohe Empfänglichkeit für intraperitoneale und subcutane Infection. $^1/_{100}$ Normalöse des für Meerschweinchen hochvirulenten Paratyphusstamm Nr. 140 tödtete Mäuse intraperitoneal in 24 Stunden, $^1/_{1000}$ Oese in 48 Stunden; bei Injection von $^1/_{10000}$ Oese gingen die Thiere noch in 8 bezw. 10 Tagen zu Grunde. In letzterem Falle fanden sich die charakteristischen nekrotischen Herde in der Leber und hämorrhagisch-seröse Ergüsse in den grossen Körperhöhlen. Paratyphusbacillen waren mikroskopisch und culturell in den inneren Organen sowie im Herzblut nachweisbar.

Subcutane Injection von in schwach-alkalischer Nährbouillon aufgeschwemmten Paratyphusbacillen tödtete weisse Mäuse vom Subcutangewebe aus ebenfalls in verschieden langer Zeit, $^1/_{50}$ Oese in 1 bezw. 2 Tagen, $^1/_{100}$ Oese in 2 bezw. 4 Tagen. Es fanden sich auch hier starke, ausgedehnte entzündliche Infiltrate an der Injectionsstelle, sowie mikroskopisch und culturell Paratyphusbacillen an letzterer, im Herzblute, sowie in den inneren Organen.

Die Infection weisser Mäuse durch Verfütterung von Paratyphusbouillonculturen ist schon, wie bereits erwähnt, von Bonhoff mit wechselndem Erfolg versucht worden. Korte hatte mit Verfütterungsversuchen stets negative, Smidt positive Ergebnisse gehabt. Bei unseren eigenen Versuchen war zunächst die Verfütterung des hochvirulenten Stammes Nr. 140 (drei Bouillonkölbchen an 10 Mäuse in Semmelaufweichung) erfolglos; die Thiere schieden in den Fäces Paratyphusbacillen in grossen Mengen aus, erkrankten jedoch bis zu 4 Wochen nicht. Dasselbe Ergebniss hatte die Verfütterung gleicher Culturmengen des Paratyphusstammes Nr. 140 an sechs graue Feldmäuse. Wiederholte Verfütterungs-



versuche mit anderen hochvirulenten Paratyphusstämmen (Nr. 275, 283, 289, 276, 215), sowohl solchen, die durch Mäusetyphusserum hoch, als solchen, die durch letzteres schwach agglutinirt wurden, fielen indess zum Theil eindeutig positiv aus. Es tödteten die beiden Stämme Nr. 275 (Seemann I) und Nr. 289 die weissen Mäuse bei wiederholten Versuchen stets in 8 bis 14 Tagen, und zwar gingen sämmtliche gefütterten Thiere ein. Die Menge der an jedes Mal sechs Mäuse verfütterten Paratyphusbakterien entsprach der Culturmenge von drei schräg erstarrten Agarröhrchen, in schwach alkalischer Bouillon aufgeschwemmt. Es wurde nun versucht, diejenigen Stämme, bei welchen der Versuch negativ ausgefallen war, durch wiederholte Mäusepassage (intraperitoneale Infection) in ihrer Virulenz zu steigern; aber selbst nach 5maliger Passage gelang es nicht, trotz Verfütterung grosser Mengen (drei in Bouillon abgeschwemmte schräg erstarrte Röhrchen) mit ihnen Mäuse tödtlich zu inficiren. Bei den in Folge der Verfütterung mit den Paratyphusculturen Nr. 275 u. 289 eingegangenen Thieren wurden jedes Mal die Bakterien culturell im Herzblut und den inneren Organen nachgewiesen. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei diesen Thieren entsprachen den durch die Infection mit Mäusetyphus gesetzten und bestanden vorwiegend in einer hämorrhagischen Entzündung des Magendarmcanals und starker Milz- und Leberschwellung. In letzterem Organe fanden sich zuweilen bis stecknadelkopfgrosse eitrige Infarkte. Die Nebennieren zeigten zuweilen mässige Schwellung und Braunfärbung.

Erwähnenswerth erscheint, dass Bonhoff, dessen Liebenswürdigkeit wir den Stamm Nr. 275 (Seemann I) verdanken, mit diesem Stamm auch theilweise positive Ergebnisse mit Verfütterung an Mäusen hatte. Bonhoff lässt indess in seiner Arbeit die Möglichkeit einer Verwechselung dieses Stammes mit Mäusetyphus offen, da der Verfütterungsversuch bei der Wiederholung negativ ausfiel. Der positive Ausfall unseres Fütterungsversuches spricht nun allerdings doch für die Richtigkeit der ersten Bonhoff'schen Beobachtung.

Die an bunten Ratten angestellten Virulenzversuche ergaben, dass diese Thiere für die Infection mit Paratyphusbacillen viel weniger empfänglich sind als Meerschweinchen und Mäuse. Der für die letzteren Thierarten so hochvirulente Paratyphus (Nr. 140) tödtete bei intraperitonealer Injection von $^1/_{10}$ Normalöse von zwei Ratten eine innerhalb 24 Stunden, das andere Thier blieb gesund. Geringere Culturmengen hatten in keinem Fall irgend welche Wirkung, dagegen fanden sich unter den sämmtlichen Paratyphusculturen 15 Stämme, welche bei $^1/_5$ Oese bei intraperitonealer Infection die Thiere in 1 bis 3 Tagen tödteten. Culturell liessen sich im Herzblut der verendeten Thiere Paratyphusbacillen nachweisen.



Die subcutane Infection hatte selbst bei Anwendung grösserer Dosen (1 Oese) bei Ratten stets ein negatives Ergebniss. Es bildeten sich an der Injectionsstelle zwar geringe entzündliche Infiltrate, die sich jedoch nach 5 bis 8 Tagen vollständig zurückgebildet hatten.

Durch Verfütterung liessen sich Ratten in keinem Fall inficiren.

Virulenzversuche an Kaninchen ergaben, dass es möglich ist, dieselben sowohl vom Peritoneum, als auch intravenös und subcutan mittels Injection von lebenden Paratyphusbacillen zu tödten. Die Virulenz für intraperitonale Infection liegt zwischen $^1/_2$ und $^1/_5$ Oese eines hochvirul. Stammes (140); bei intravenöser Einverleibung tödtete $^1/_{10}$ Oese innerhalb 4 Tagen, $^1/_{50}$ Oese wurde mit allerdings kräftiger Reaction vertragen; vom Subcutangewebe aus bedurfte es 1 Oese des für Meerschweinchen hochvirulenten Stammes Nr. 140, um ein Kaninchen von 2100 ^{grm} Körpergewicht innerhalb 4 Tagen zu tödten, während $^1/_2$ Oese hierzu nicht mehr im Stande war. Letzteres Thier, ebenso wie dasjenige, welches $^1/_{50}$ Oese intravenös erhalten hatte, blieben dauernd gesund. Bei intravenöser und subcutaner Infection ergab die Section der Kaninchen deutliche Zeichen acuter Intoxication: Exsudate in den serösen Höhlen, fettige Degeneration der Leber. Bei dem subcutan injicirten Thier war es nicht zu einer Abscessbildung, sondern nur zur Bildung eines sulzig-hämorrhagischen Infiltrates von ziemlicher Ausdehnung gekommen.

Verfütterungsversuche an Kaninchen führten zu keinem Ergebniss.

Von kleineren Laboratoriumsthieren wurden ausserdem noch Versuche an zwei Hühnern und zwei Tauben angestellt. Die intramusculäre Injection von 1 Oese Paratyphus (Nr. 140) erzeugte bei einer Taube in einem Fall nach 4 Tagen einen Abscess im Brustmuskel, der jedoch nach seiner spontanen Entleerung bald abheilte. Im Uebrigen blieben sämmtliche Thiere vollständig gesund.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Paratyphusbakterien Typus B hitzebeständige Toxine bilden, wurden verschiedene der virulentesten Culturen 215, 228, 140, 171 und zwar solche, welche durch Mäusetyphusserum stark und solche, die wenig agglutinabel sich erwiesen hatten, in physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, 10 Minuten lang bei einer Temperatur von 100° gehalten, und dann Mäusen intraperitoneal in Mengen von $^1/_2$ und 1 Oese (je 4 Thiere) injicirt. Von diesen sämmtlichen 16 Thieren ging nur eines nach 3 Wochen ein ($^1/_2$ Oese 171); Paratyphusbakterien konnten in dem Cadaver nicht nachgewiesen werden; die Todesursache konnte durch die Section nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Dass der Tod des Thieres indess in Folge einer Toxinwirkung erfolgt sei, ist wohl kaum anzunehmen, in Anbetracht der Thatsache, dass die übrigen drei mit $^1/_2$ bezw. 1 Oese P. 171 injicirten Thiere am Leben blieben, und dass der Tod erst 3 Wochen nach der Injection erfolgte.



Bei weiteren, in gleicher Weise mit grösseren Mengen abgeschwemmter und 10 Minuten durch Erhitzung sterilisirter Agarcultur einiger hochvirulenter Stämme (1/2 Cultur 215 und 171) vorgenommenen Versuchen gingen sämmtliche Mäuse innerhalb 24 Stunden ein. Eine gleichzeitige von der abgeschwemmten sterilen Culturmasse in schwach alkalischer Bouillon angelegte Controle war in allen Fällen steril geblieben; in den Mäusecadavern liessen sich keine Paratyphusbakterien culturell nachweisen. Dass es sich jedoch auch in diesen Fällen nicht etwa um die Wirkung hitzebeständiger Toxine gehandelt hat, sondern dass die Thiere wohl lediglich an der Schwere des Eingriffes überhaupt eingegangen sind, scheint daraus hervorzugehen, dass zur Controle dieses Versuches unter gleichen Bedingungen mit abgetödteten erhitzten Typhusculturen mehrerer Stämme hoher und geringer Virulenz injicirte Mäuse ebenfalls sämmtlich eingingen. Man wird jedoch deshalb niemals dem Eberth-Gaffky'schen Typhusbacillus hitzebeständige Toxine zuschreiben wollen. Man wird also nicht fehlgehen, wenn man im Allgemeinen das Vorhandensein hitzebeständiger Endotoxine beim Paratyphusbacillus Typus B verneint. Wir wollen jedoch hierbei die Frage offen lassen, ob etwa ganz frisch aus dem Körper gezüchtete Paratyphusbacillen diese Eigenschaft besitzen, da uns solche Stämme nicht zur Verfügung standen. Es stimmen demnach unsere Versuchsergebnisse mit denen von Kurth, Korte, Conradi, v. Drigalski und Jürgens überein. Verschiedene mit keimfreien Filtraten 8- bis 14 tägiger Bouillonculturen hochvirulenter Paratyphusstämme vorgenommene Infectionsversuche an für Paratyphus so hochempfänglichen Meerschweinchen fielen ebenfalls durchaus negativ aus.

Da sowohl durch unsere oben beschriebenen Untersuchungen, als auch von anderer Seite (Trautmann, de Nobele) mittels der specifischen Agglutination festgestellt war, dass die Paratyphusbacillen in sehr naher Beziehung zu einer bestimmten Gruppe der bei Fleischvergiftungen gefundenen Bakterien stehen, — dieselben Beziehungen konnten, wie später erörtert werden wird bei unseren weiteren Untersuchungen mittels der specifischen Bakteriolysine festgestellt werden —, so lag es nahe, zu untersuchen, ob es möglich sei unter natürlichen Versuchsbedingungen unsere Hausthiere — die z. Th. als Schlachtthiere in Betracht kommen — durch Paratyphusbacillen tödtlich zu inficiren.

Es wurden daher weiterhin eine grössere Reihe von Verfütterungsversuchen mit Paratyphusbakterien an grösseren Hausthieren angestellt, und zwar an 1 Pferd, 2 jungen und 2 alten Hunden, 3 alten Ziegen, 1 Ziegenlamm, 2 Hammeln und 2 Kälbern. Es wurde zur Verfütterung jedes Mal je ein Erlenmeyerkölbchen 24 stündiger Bouilloncultur, zum Theil auch Bakteriengemische verschiedener Stämme in derselben Menge



in Milch oder auf Rübenschnitzeln verwendet. Während das Pferd überhaupt nicht, weder mit Fieber noch sonstigen Erscheinungen reagirte, bekamen die Hunde theilweise und eine von den älteren Ziegen eine vorübergehende Temperatursteigerung nach grossen Mengen Bakterien. Die anderen alten Ziegen hatten zum Theil wahrscheinlich sehr wenig Bakterien mit der Milch genossen und überhaupt keine Erscheinungen gezeigt. Das Ziegenlamm, welches eine grössere Menge Bouilloncultur Paratyphusgemisch in steriler Milch erhalten hatte, erkrankte unter Fieber, die Fresslust war deutlich vermindert, das Thier war schwach auf den Füssen; Durchfälle bestanden nicht. Die Section des nach 8 tägigem Kranksein getödteten Thieres ergab keine pathologisch-anatomischen Veränderungen ausser einigen geringfügigen Petechien im oberen Dünndarm und einer markig geschwollenen Mesenterialdrüse von Wallnussgrösse. Mikroskopisch oder culturell liessen sich in dieser Drüse und in den Organen (Milz, Nieren, Muskeln) des Thieres Bakterien nicht nachweisen.

Die Verfütterung von grösseren Mengen Paratyphus-Bouillonculturengemisch an zwei Hammel hatte den Erfolg, dass die Thiere mehrere Tage hindurch eine deutliche Steigerung der Körperwärme aufwiesen; die Fäces der Hammel waren zeitweise etwas breiig, Durchfälle traten nicht ein; die Thiere waren trotz des Fiebers während des ganzen Versuches munter und frassen gut.

Bei zwei 3 Wochen alten Kälbern stellte sich nach Verfütterung von 24 stündigem Paratyphus-Bouillonculturgemisch ($^1/_2$ Erlenmeyerkölbchen) in abgekochter Milch ebenfalls eine ausgesprochene Temperaturreaction und deutliches Kranksein ein. Die Fresslust der Thiere war stark herabgemindert; nach 4 bezw. 7 Tagen bekamen die Thiere heftige Durchfälle; der Stuhl war grünlich-gelb, übelriechend, mit fetzigen Schleimmassen durchsetzt. Während allmählich die Durchfälle nachliessen, kehrte die Temperatur nach 13 bezw. 14 Tagen ebenfalls unter Remissionen zur Norm zurück; die Thiere erholten sich wieder.

Bei sämmtlichen Fütterungsversuchen wurde während des ganzen Versuches der Stuhl der Thiere täglich und sehr häufig das Blut auf Paratyphusbacillen untersucht, jedoch stets mit negativem Resultat.

Auch die Prüfung des Blutes der fieberhaft auf die Fütterung reagirenden Thiere auf specifische Antikörper (Agglutinine), welche zu den verschiedensten Zeiten wiederholt vorgenommen wurde, hatte niemals ein positives Ergebniss. Man ist daher wohl berechtigt anzunehmen, dass die Paratyphusbacillen im Körper, ja schon im Darm der grösseren Thiere einer schnellen Auflösung verfallen, da ihr Nachweis im Blut oder den Fäces niemals möglich war. Eine später, nach 6 Wochen, nochmals



wiederholte Verfütterung an die Hammel und Kälber hatte wiederum eine Temperatursteigerung zur Folge, aber der Nachweis von Bakterien in den Excrementen oder dem Blut misslang auch dieses Mal. Dass die Thiere nach der Verfütterung grosser Mengen von Paratyphusbakterien Fieberbewegungen zeigten, ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, dass beim Zerfall der Bakterien im Darm massenhaft Endotoxine der Paratyphusbacillen zur Resorption gelangten, wodurch ja immerhin eine Fieberbewegung ausgelöst werden kann. Dass die Thiere in der That keine Infection durchgemacht hatten, scheint aus den späteren Versuchen mit subcutaner Infection mit Paratyphus an dem einen der beiden Kälber hervorzugehen. Nach der subcutanen Injection einer Oese eines hochvirulenten Paratyphus reagirte dieses Thier mit ebenso hohem Fieber wie zwei normale Kälber, welche dieselbe Dosis erhalten hatten.

Eine durch eine vorherige Infection erworbene Immunität ist also hier offenbar nicht vorhanden gewesen. Sämmtliche drei Kälber überstanden übrigens die subcutane Einverleibung einer Oese Paratyphus B ohne besonderes Kranksein oder Gewichtsabnahme. Infectiös für diese Thiere vom Subcutangewebe aus scheinen also die Paratyphusbacillen nicht zu sein. Die Thiere waren 12 Wochen in Beobachtung und haben seitdem ohne irgend welche Krankheitserscheinungen ständig an Körpergewicht zugenommen mit Ausnahme des Kalbes, welches früher Paratyphus verfüttert erhalten hatte. Letzteres muss indess aus dem Versuche auscheiden, da es später mit Texasfieber inficirt wurde.

Nachdem in letzter Zeit von verschiedenen Seiten, namentlich von Bonhoff, auf die nahen Beziehungen des Paratyphus Typus B zum Löffler'schen Mäusetyphus hingewiesen war, lag es nahe, die Virulenz der Mäusetyphusbakterien einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen. Wir konnten allerdings von umfassenden Versuchen absehen, weil bereits R. Pfeiffer über die Pathogenität der Löffler'schen Mäusetyphusbacillen 1892 auf Veranlassung des Cultus-Ministeriums zur Nachprüfung der Löffler'schen Versuche eine grössere Reihe von Fütterungsversuchen ausser an Mäusen auch an anderen Thieren angestellt hatte.

Die Versuche, welche seiner Zeit nicht veröffentlicht worden sind, wurden vorgenommen an:

4 Kaninchen,	2 Pferden,
8 Meerschweinchen,	1 Affen,
3 Katzen,	2 Gänsen,
4 Hunden,	2 Enten,
2 Schweinen,	2 Hühnern,
2 Ziegen,	2 Tauben.
3 Schafen,	



Den Thieren wurde das mit 2 Tage alten Bouillonculturen des Mäusetyphusbacillus sehr reichlich vermischte Futter während des ganzen Versuches, etwa 8 bis 9 Tage lang gereicht. Keine Krankheitserscheinungen zeigten sich bei den Schweinen, Ziegen, Katzen, Hunden, Gänsen, Enten, Hühnern und Tauben. Von den vier Kaninchen ging eins, ein schwächliches Thier, nach 7 Tagen ein. Im Blut und den Organen fanden sich die Bacillen in Reincultur. Von acht Meerschweinchen gingen drei am 8., 9. und 11. Tage zu Grunde: Bacillenbefund wie bei dem Kaninchen. Bei den Hammeln traten schon am 3. Tage Krankheitserscheinungen auf, Fieber, Durchfall, Futterverweigerung. Bei fortgesetzter Zufuhr von Bacillen (mittels Schlundsonde) starben zwei Hammel, das dritte Thier wurde in schwer krankem Zustand getödtet. Sectionsbefund bei allen drei Thieren: Hämorrhagische Entzündung des Labmagens und Darmes, leichte Milzschwellung; aus dem Blut konnten Löffler'sche Bacillen gezüchtet werden. Mäuse, welche mit dem Blut der Hammel geimpft waren, gingen an Mäusetyphus zu Grunde. Auch die Pferde zeigten bald nach der Fütterung deutliche Krankheitserscheinungen, Durchfall, kolikartige Erscheinungen, es wurde daher, da es sich um werthvolle Thiere handelte, der Versuch abgebrochen. Der Affe wurde krank (Verdauungsstörungen), verweigerte 3 Tage lang das Futter. Nach Abbrechen des Versuches erholte er sich wieder. R. Pfeiffer schliesst aus seinen Versuchen, dass der Löffler'sche Mäusetyphusbacillus für die meisten Hausthiere unter natürlichen Infectionsbedingungen wenig infectiös, wenn nicht vielfach indifferent sei. Denn die Zufuhr der Bacillen bei den Thieren, welche starben (Hammel) war eine ganz enorme, wie sie bei Spontaninfectionen wohl nicht vorkommen kann. Am Schlusse seines Berichtes erwähnt er noch, dass in Griechenland, wo Mäusevertilgungsversuche mit dem Löffler'schen Bacillus im Grossen angestellt waren, keine Erkrankungen der in derselben Gegend auf Weide gehenden Schafe beobachtet worden sind.[1]

An eigenen Versuchen sei zunächst erwähnt, dass von den zwei Mäusetyphusstämmen unserer Sammlung einer bei intraperitonealer Infection für Meerschweinchen eine Virulenz von $^1/_{10}$ Oese, der andere direct von Geheimrath Löffler bezogene (Stamm Nr. 274) dagegen eine solche von $^1/_{1000}$ Normalöse 24 stündiger Agarcultur besass. Die Mäusetyphusbacillen waren mikroskopisch und culturell im Herzblut und in den Organen der verendeten Thiere nachzuweisen.

Vom Subcutangewebe aus tödtete die Löffler'sche Mäusetyphuscultur Meerschweinchen von 300 grm Körpergewicht noch in der Menge von $^1/_2$ Oese. Es fanden sich bei der Section nekrotische Herde in der

[1] Veröffentlichung über letztere Versuche im *Centralbl. f. Bakteriol.* Bd. XII.

Leber, ferner Schwellung und Braunfärbung der Nebennieren. Die Bakterien waren im Herzblut nachweisbar.

Fütterungsversuche (1 Kölbchen Bouilloncultur 274 auf Semmel) an zehn Meerschweinchen hatten folgendes Ergebniss: Nach 3 bezw. 5 Tagen starben von den zehn Thieren drei; die Section ergab bei allen drei Thieren eine hämorrhagische Entzündung der Magen-, Dünndarm- und Dickdarmschleimhaut, keine geschwürigen Veränderungen; dagegen fanden sich zahlreiche, stark geschwollene und ebenfalls hämorrhagisch entzündete Darmfollikel. Die Milz war vergrössert. Im Herzblut, Milz, Leber und Nieren liessen sich mikroskopisch und culturell die Bacillen nachweisen. Die übrigen sieben Thiere blieben am Leben.

Die Verfütterung von Mäusetyphusbacillen an weisse und graue Mäuse zeitigte, wie auch schon von anderer Seite (Bonhoff) hervorgehoben worden ist, auch bei unseren Versuchen nicht ganz gleichmässige Ergebnisse. Der aus dem Piorkowsky'schen Institut bezogene Stamm (Nr. 281) erwies sich für graue Mäuse nicht als virulent, dagegen starben von sechs mit ihm gefütterten weissen Mäusen zwei nach 8 bezw. 14 Tagen, die übrigen Thiere blieben gesund. Aus der einen gestorbenen Maus gelang es, die Bacillen aus dem Herzblut wieder zu züchten. Die Section ergab starke Milz- und Leberschwellung, sowie eine hämorrhagische Entzündung der Schleimhaut des Magens und Dünndarms. Bei der zweiten Maus wurde wegen sehr weit vorgeschrittener Fäulniss die Section unterlassen. Bei weiteren Fütterungsversuchen mit dem virulenten Löffler'schen Stamm gingen sämmtliche Thiere innerhalb 4 bis 14 Tagen ein; die Section ergab dasselbe Bild; der Bacillennachweis war stets in den Organen der Cadaver möglich.

An bunten Ratten vorgenommene Verfütterungsversuche von Mäusetyphusbacillen (grosse Menge Bouilloncultur der virulenten Löffler'schen Cultur Nr. 274) verliefen stets resultatlos. Die Thiere zeigten keinerlei Krankheitserscheinungen. Bei subcutaner und intraperitonealer Infection zeigten sich für Ratten analoge Verhältnisse wie beim Paratyphusbacillus B.

Für Kaninchen zeigten die Mäusetyphusbacillen (274) die gleichen Virulenzverhältnisse, wie sie schon beim Paratyphus besprochen sind. Es gelang, sowohl intraperitoneal mit $^1/_5$ Oese, als auch subcutan mit 1 Oese die Thiere tödtlich zu inficiren. Die Bacillen fanden sich regelmässig im Herzblut und in den inneren Organen. Bei den subcutan inficirten Thieren zeigte sich, genau wie in Folge Infection mit Bac. Paratyphus B, ein sulziges Infiltrat an der Injectionsstelle, ferner traten zahlreiche nekrotische Herde in der Leber auf; letztere war fettig degenerirt. Die Nebennieren waren geschwollen und braun verfärbt. Bei den der intraperitonealen Injection lebender Mäusetyphusbacillen erlegenen Thieren



fand sich eine eitrig-seröse, theils hämorrhagische Peritonitis mit entsprechendem Exsudat, in einem Falle ein nekrotischer Leberherd von etwa Erbsengrösse.

Die zusammenfassende Betrachtung der Pathogenitätsverhältnisse der Paratyphusbakterien Typus B lässt zunächst erkennen, dass es nur zuweilen gelingt, Thiere durch Verfütterung der Culturen zu inficiren und zwar weisse Mäuse. Es handelte sich hier, wie bemerkt sei, um zwei Paratyphusstämme, von denen einer durch agglutinirendes Mäusetyphusserum hoch agglutinirt wurde (289), der andere dagegen nur eine deutliche Gruppenagglutination zeigte (275). Bei allen anderen geprüften Thieren gelang eine Infection per os trotz grosser Mengen angewandter Culturen nicht. Die Thiere, namentlich jüngere, zeigten zwar nach dem Genuss der Bakterien vorübergehende Krankheitserscheinungen, Fieber, zuweilen Durchfall (zwei Kälber), jedoch konnte niemals ein Uebergang der Bakterien in's Blut nachgewiesen werden. Ebenso wenig gelang es, dieselben aus den Ausscheidungen der Thiere oder aus den Organen eines getödteten Thieres (Ziegenlamm), das hoch fieberte, herauszuzüchten. Es hatte also wahrscheinlich kein Eindringen der Bakterien in die Gewebe, also keine Infection des Gesammtkörpers stattgefunden. Man kann jedenfalls nach den vorliegenden Versuchen keineswegs zu der Annahme gelangen, der Paratyphus sei ursprünglich eine Thierkrankheit sui generis.

Hiermit stimmt überein, dass man bisher noch niemals Epizootien bei grösseren Thieren beobachtet hat, als deren Ursache der Paratyphusbacillus festgestellt werden konnte. Wenn trotzdem Fleischvergiftungs-Epidemieen beim Menschen beschrieben sind, bei welchen die Paratyphus B-Bacillen aus dem Körper der verdächtigen erkrankten und geschlachteten Thiere isolirt werden konnten (Fischer), so sind unter solchen Umständen wahrscheinlich ganz besondere Infectionsbedingungen anzunehmen, die zuweilen zur sporadischen Erkrankung solcher Thiere (namentlich Rinder) führen können. Bei der bekannten Neigung der Paratyphusbacillen (B), Abscesse zu verursachen, wäre es immerhin denkbar, dass z. B. Euterentzündungen und -Abscesse durch sie hervorgerufen werden könnten, von denen aus die Bakterien, wenn das Thier der Infection erliegt, in die Blutbahn und dann weiter in das Fleisch und die Organe gelangen könnten. Von der Hand zu weisen ist ferner nicht die Möglichkeit der Infection vom Nabel oder von der Gebärmutterinnenfläche aus post partum, da gerade öfter Fälle von Erkrankungen beschrieben sind, die sich an den Genuss von Fleisch kurz nach dem Kalben nothgeschlachteter Kühe angeschlossen haben. Diese Möglichkeiten wollen wir bei der Beurtheilung der Frage der natürlichen Infection grösserer Thiere durch Paratyphusbacillen durchaus offen lassen. Weitere Versuche hierüber, zu denen wir



bisher leider aus äusseren Gründen nicht gekommen sind, werden hoffentlich noch zur Klärung dieser wichtigen Fragen beitragen. Man wird aber nach dem Gesagten nicht fehlgehen mit der Annahme, dass in der Mehrzahl der Fälle von sogen. Fleischvergiftung, als deren Ursache Paratyphusbacillen Typus B festgestellt werden konnten, diese erst durch nachträgliche Verunreinigung des Fleisches nach der Schlachtung in dasselbe hineingelangt sind und hier einen ihnen sehr zusagenden Nährboden für die Weiterwucherung gefunden haben.

Hochinfectiös erweisen sich dagegen die Paratyphusbakterien bei intraperitonealer und subcutaner Infection kleiner Versuchsthiere. Für Meerschweinchen und weisse Mäuse ist hier in erster Reihe eine sehr bedeutende Pathogenität zu constatiren. Oft genügen kleinste Mengen Bakterien ($^1/_{100000}$ Oese bei 7 Proc. der untersuchten Stämme), um sich im Meerschweinchen zu vermehren und die Thiere bei intraperitonealer Infection zu tödten, bei Mäusen liegen die Verhältnisse ähnlich. Durch seine hohe Virulenz für Meerschweinchen und Mäuse, namentlich vom Unterhautzellgewebe aus, unterscheidet sich der Paratyphusbacillus nicht unbedeutend vom Typhusbacillus. Für Ratten sind die Paratyphusbacillen wenig virulent, gar nicht, wie es scheint, für Vögel. Kaninchen vertragen intraperitoneal und subcutan ziemlich grosse Mengen von Bakterien ohne Schaden; die tödtliche Dosis für die intraperitoneale Infection liegt etwa bei $^1/_5$ Oese lebender 24 stündiger Agarcultur für Thiere von ca. 2000 ^{grm} Körpergewicht.

Ein Vergleich der Virulenz und Pathogenität der Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen ergiebt eine grosse Aehnlichkeit beider. Ebenso wie der Mäusetyphus ist der Paratyphus für Mäuse unter gewissen Bedingungen infectiös; Meerschweinchen gehen nach Verfütterung von Mäusetyphus ein. Nach Verfütterung von Paratyphus zeigen sie Immunität gegen nachherige künstliche, sonst stets tödtliche intraperitoneale Infection, ein Beweis dafür, dass sie in der That eine Infection durchgemacht haben. Letzteres wird noch mehr dadurch erwiesen, dass Meerschweinchen, welche mit abgetödteten Culturen von Paratyphus gefüttert waren, diese Immunität nicht zeigten. Für grössere Versuchsthiere (Ziegen, Kälber, Pferde u. s. w.) sind unter gewöhnlichen Versuchsbedingungen (Infection per os) weder Paratyphus- noch Mäusetyphusbacillen infectiös. Die positiv ausgefallenen Versuche Pfeiffer's mit Hammeln weichen bezüglich der Versuchsanordnung so weit von den Bedingungen der natürlichen Infection ab (tägliche Fütterung grosser Mengen mittels Schlundsonde), dass sie für die Infection nicht hinreichend beweiskräftig erscheinen. Verfütterungsversuche an Affen konnten aus äusseren Gründen von uns mit Paratyphus nicht angestellt werden.



Schliesslich ist es nothwendig, an dieser Stelle die **Virulenz** der bei unseren Untersuchungen verwendeten **Enteritisstämme** nach einer kurzen Besprechung zu unterziehen. Die diesbezüglichen Untersuchungen beschränken sich aus Mangel an Thieren auf die Prüfung der intraperitonealen Virulenz für Meerschweinchen unter den gleichen Bedingungen, wie sie für die Paratyphusbakterien vorgenommen worden waren. Diese Verhältnisse sind aus der Tabelle XXII ersichtlich.

Tabelle XXII.

Enteritis. Virulenz, an Meerschweinchen von 250 grm Körpergewicht bestimmt. Intraperitoneale Injection. Todt nach 24 Stunden.

Nr.	1/4	1/8	1/12	1/20	1/30	1/100	1/1000	1/10000
					Oese			
243	lebt							
244	„							
248	+	krank	lebt					
249	+	„	„					
259	+	+	+	+	+	+	+	lebt
260	+	+	+	+	+	+	lebt	
261	+	+	+	+	+	+	+	+ (48 Std.)
262	lebt							
263	+	+	+	+	+	+	+	+ (48 Std.)
264	+	+	+	+	+	+	+ (48 Std.)	
265	+	+	+	+	krank	lebt		
266	+	krank	lebt					
267	+	+	+	+	+	+	+ (48 Std.)	
268	+	+	+	+	+	+	+	+ (48 Std.)
269	+	+	+	+	+	+ (48 Std.)		
270	lebt							
271	+	+	+	+	+	+	lebt	
292	lebt							
293	„							

Es geht hieraus hervor, dass diejenigen Enteritisstämme, welche, wie oben erwähnt, durch hochwerthiges Paratyphusserum hoch agglutinirt wurden, sich ebenfalls durchschnittlich durch eine ausserordentlich hohe Meerschweinchenvirulenz, ähnlich wie die echten Paratyphusculturen, auszeichnen. Es kommen hier in Betracht die Stämme: Nr. 259, 263, 264, 266, 267, 268, 271, von denen mehrere, wie ersichtlich, noch eine Virulenz von $^1/_{10000}$ Oese zeigen. Bezeichnend ist auch hierbei, dass selbst bei solchen kleinen Mengen zur Prüfung verwandter Bakterien fast jedes Mal der Nachweis derselben im Blut und den Organen der eingegangenen Thiere gelang.



Die übrigen Enteritisstämme, Typus Gärtner, waren zum Theil für Meerschweinchen wenig virulent, zum Theil tödteten sie bei intraperitonealer Infection noch in Mengen von $^1/_{10000}$ Oese. Gerade die Bakterien des echten Gärtnertypus sollen sich durch das Vorhandensein hitzebeständiger Toxine auszeichnen. Da nach dem übereinstimmenden Urtheil der Autoren sich jedoch die Hitzebeständigkeit der Toxine bald bei Züchtung auf künstlichen Nährböden verliert und wir nur alte Laboratoriumsculturen dieser genannten Stämme zur Verfügung hatten, so nahmen wir von einer diesbezüglichen Prüfung Abstand. Ein Verfütterungsversuch (Ziege), der mit dem Stamm (261) angestellt war, fiel ebenso wie eine Verfütterung des der Paratyphusgruppe (268) angehörigen Stammes negativ aus. Da es sich bei diesen Verfütterungsversuchen ebenfalls um alte Laboratoriumsculturen handelt, die ihre Pathogenität, trotz erhaltener Virulenz vom Peritoneum aus, durch das lange Fortzüchten eingebüsst haben können, so kann man wohl von dem Ausfall dieser Versuche bindende Schlüsse nicht ziehen.

Active Immunität bei Paratyphus und Mäusetyphus.

Es war bekanntlich gelungen, durch Vorbehandlung von Meerschweinchen mit abgetödteten Typhus-, Coli- und Cholerabakterien und nachfolgende Prüfung dieser Thiere mit den verschiedensten Bakterienarten nicht nur die Specificität der activen Immunisirung darzuthun, sondern es war auch möglich, auf diesem Wege nicht nur z. B. Typhus- und Colibakterien, sondern auch die sich so nahestehenden Bakterien der Vibrionengruppe von einander zu trennen. Aus demselben Grunde waren durch active Immunisirungsversuche an Meerschweinchen mit Paratyphus und Mäusetyphus weitere Aufklärungen über die Beziehungen dieser Bakterien zu einander zu erwarten. Es sollte auf diese Weise durch wechselseitige Prüfung der einzelnen Immunthiere gegenüber den verschiedenen Bakterienarten auch gleichzeitig festgestellt werden, wie weit sich letztere bezüglich der activen Immunität gegenseitig beeinflussbar erwiesen. Eine grössere Anzahl Thiere wurde daher mittels subcutaner Injection theils von abgetödteten, theils von lebenden Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen, theils zuerst mit abgetödteten (2 Stunden bei 60°), später lebenden einzelnen (monovalent) oder gemischten (polyvalent) Culturen vorbehandelt. Bei abgetödteten Culturen betrug die Anfangsdosis in der Regel $^1/_8$ bis $^1/_4$ Cultur (schräg erstarrtes Agarröhrchen), bei lebenden wurde mit dem 100 fachen Multiplum der bei intraperitonealer Infection tödtlichen kleinsten Dosis des betreffenden Stammes begonnen. Nach ungefähr 4 Wochen wurde nochmals die doppelte Dosis gegeben.



Bei dieser Immunisirungsart gingen verhältnissmässig wenig Thiere verloren und es wurden, wie weiter unten aus den angefügten Tabellen ersichtlich sein wird, gute Immunisirungseffecte erzielt. In der Regel wurden zur Immunisirung nur zwei Injectionen angewandt und die Thiere 4 Wochen nach der letzten Injection auf Immunität geprüft. Bei der Immunitätsprüfung wurde in der ersten Zeit bei den hochvirulenten Paratyphusstämmen die 10 fach tödtliche Dosis letalis minima angewendet, später jedoch stets eine ganze Normalöse, also oft das 1000- bis 100000 fache der für Meerschweinchen von 250 grm Körpergewicht bei intraperitonealer Infection tödtlichen Dosis. Zu jedem geprüften Immunthier wurde stets ein etwa annähernd gleich schweres, nicht vorbehandeltes Controlthier mit der einfachen, tödtlichen Menge der virulenten Bakterien geprüft. Letztere sind der Uebersichtlichkeit wegen in den Tabellen fortgelassen. Die Immunthiere, welche der Infection bei der Prüfung erlagen, wurden stets durch die Section daraufhin controlirt, ob bei ihnen eine zufällige nebensächliche anderweitige Todesursache mit Sicherheit auszuschliessen war, und ob eine Vermehrung der injicirten Bakterien in ihrem Peritoneum stattgefunden hatte. Eine zweite Controle bestand darin, dass jedes Mal ein Immunthier von einer bestimmten Serie Thieren auf seine Immunität gegen den eigenen Stamm geprüft wurde. Die als immun befundenen Thiere wurden jedes Mal bis mindestens 14 Tage nach der Prüfung beobachtet und zum Theil später getödtet, um etwaige durch die Infection gesetzte Veränderungen, die indess nicht den Tod der Thiere herbeigeführt hatten, feststellen zu können. Gleichzeitig mit den Paratyphus- und Mäusetyphusimmunthieren war eine grössere Anzahl activer Typhusimmunthiere angelegt worden, ferner einige Thiere mit Enteritis-Gärtner. Letztere erwiesen sich indess bei der Prüfung gegen den eigenen Stamm als nicht genügend immun, sie mussten daher leider bei den übrigen Prüfungen zurückgestellt werden. Dagegen wurde eine grosse Anzahl Typhus-Immunthiere auf Immunität gegen Paratyphus- und Mäusetyphusstämme und umgekehrt geprüft.

Die Prüfung der Thiere wurde weiterhin im Einzelnen in der bekannten Weise vorgenommen, dass eine gewisse Zeit nach erfolgter Injection der virulenten Bakterien mittels steriler Capillare Peritonealexsudat entnommen und im hängenden Tropfen mit starker Vergrösserung untersucht wurde. Bei den Paratyphusimmunthieren zeigte sich bei der specifischen Beeinflussung stets das Pfeiffer'sche Phänomen der Bakteriolyse in sehr schöner ausgesprochener Weise in den verschiedenen Abstufungen, je nach der Zeit der Einwirkung — noch lebhaft bewegliche, unbewegliche und bewegliche, nur unbewegliche Bakterien, daneben in Zerfall begriffene; unbewegliche Bakterien und Granula; nur



Tabelle XXIII.
Typhusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
1	Ty. 3	24. X. 04	Mäusety. 274	† 26. X.	Zahlreiche Stäbchen im Peritoneum.
2	„	„	„	„	„ „
3	Ty. 27, 29, 121 Verfütterung	26. X. 04	Ty. 27	† 27. X.	Zahlr. Stäbchen im Exsudat.
4	„	„	„	„	„ „
5	„	„	Paraty. 140	„	„ „
6	„	„	„	„	„ „
7	„	„	Mäusety. 274	„	„ „
8	„	„	„	„	„ „
9	*Ty. 89*	*9. XI. 04*	*Ty. W.*	*lebt*	(— *23. XI. 04.*)
10	*Ty. 3*	*9. X. 04*	„	„	„ „
11	„	„	*Ty. 126*	„	„ „
12	„	„	„	„	„ „
13	„	„	*Ty. 151*	„	„ „
14	„	*10. X. 04*	*Ty. 3*	„	(— *23. X. 04.*)
15	„	„	„	„	(— *24. X. 04.*)
16	„	„	*Ty. 101*	„	„ „
17	„	„	„	„	„ „
18	Ty. 3	21. X. 04	Mäusety. 274 (1/50 Oese)	† 26. X.	Im Exsudat zahlr. Stäbchen.
19	„	„	„	† 25. X.	Im Exsudat sehr viele Bakt., eitriger Herd in der Leber.
20	„	„	„	† 21. XI.	„ „ (Sectionsbefund wie 18.)
21	*Ty. 54*	*16. XII. 04*	*Ty. 54 (1/2 Oese)*	*lebt*	(— *31. XII. 04.*)
22	*Ty. 56*	„	*Ty. 56* „	„	„ „
23	*Ty. 86*	„	*Ty. 86* „	„	„ „
24	*Ty. 54*	*17. XII. 04*	*Ty. 151*	„	(— *2. I. 05.*)
25	„	„	*Ty. W.*	„	„ „
26	*Ty. 56*	„	„	„	„ „
27	*Ty. 86*	„	*Ty. 151*	„	„ „
28	„	„	*Ty. W.*	„	„ „
29	Ty. 54	19. XII. 04	Paraty. 218	† 20. XII.	Im Exsudat zahlr. Bakterien.
30	*Ty. 56*	*19. XII. 04*	*Ty. 121*	*lebt*	(— *5. I. 05.*)
31	Ty. 56	19. XII. 04	Paraty. 140	† 20. XII.	Nach einer Stunde im Exsudat reichl. Granula; nach 24 Std. nur spärl. Bakterien.
32	*Ty. 86*	*19. XII. 04*	*Ty. 54*	*lebt*	(— *5. I. 05.*)
33	„	„	*Ty. 121*	„	„ „
34	*Ty. 92, 89, 84, 13*	*4. I. 05*	*Ty. 29*	„	(— *25. I. 05.*)
35	Ty. 114	4. I. 05	Ty. 29	† 5. I. 05	Im Exsudat zahlr. Bakterien.
36	*Ty. 92, 89, 84, 13*	*5. I. 05*	*Ty. 27*	*lebt*	(— *19. I. 05.*)
37	*desgl.*	„	*Ty. 121*	„	„ „
38	*desgl.*	„	*Ty. Zeidler*	„	„ „

Tabelle XXIII.
Paratyphusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
39	*Paraty. 140 Verfütterung*	*26. X. 04*	*Paraty. 140 (1/5 Oese)*	*lebt*	*Nach 1 Std. nur Granula. (— 16. XI. 04.)*
40	"	"	"	"	" "
41	Paraty. 140 Verfütterung	26. X. 04	Ty. 27 (1/3 Oese)	† 27. X.	Nach 1 Stunde sehr zahlr. Bakterien, desgl. n. 24 Std.
42	"	"	"	"	" "
43	*Paraty. 140 Verfütterung*	*26. X. 04*	*Mäusety. 274 (1/5 Oese)*	*lebt*	*Nach 1 Std. nur Granula. (— 16. XI. 04.)*
44	"	"	"	"	" "
45	*Paraty. 140*	*11. X. 04*	*Paraty. 140 (1/1000 Oese)*	"	*Nach 1 Std. keine Bakterien im Exsudat. (— 26. X. 04.)*
46	"	"	"	"	" "
47	"	"	*Paraty. 39 (1/100 Oese)*	"	*Nach 1 Std. fast nur Granula, keine Bakterien. (—26. X. 04.)*
48	Paraty. 140	11. X. 04	Paraty. 39 (1/100 Oese)	† 19. X.	Nach 1 Std. wenige Bakterien. reichl. Granula. 19. X. Im Exsudat Stäbchen.
49	*Paraty. 140*	*21. X. 04*	*Mäusety. 274 (1/50 Oese)*	*lebt*	*(— 6. X. 04.) (Virulenz 1/1000 Oese.)*
50	"	"	"	"	*(— 6. XI. 04.)*
51	"	"	"	"	" "
52	"	"	"	"	" "
53	"	"	*Mäusety. 281 (1/2 Oese)*	"	" "
54	"	"	"	"	" "
55	"	"	*Enteritis 266 (1/2 Oese)*	"	" "
56	"	"	"	"	" "
57	"	"	*Paraty. 140*	"	" "
58	"	*11. X. 04*	*Mäusety. 274 (1/3 Oese)*	"	*Am 17. X. †. Exsudat steril!*
59	"	"	"	"	*Am 24. X. getödtet Exsudat steril. Gesund.*
60	*Paraty. 131, 133, 144*	"	*Paraty. 39 (1/100 Oese)*	"	*(— 6. XI. 04.)*
61	"	"	"	"	" "
62	Paraty. 131, 133, 144	11. X. 04	Enteritis 266 (1/2 Oese)	† 14. X.	Nach 1 Stunde Granula, mässig zahlr. Bakterien. 14. X. Im Exsd. zahlr. Bakt.
63	"	"	"	"	Nach 1 Stunde mässig viel Bakterien, auch Granula. 14. X. Im Exsudat Bakterien.
64	*Paraty.-Gemisch, Verfütterung*	*16. XII. 04*	*Paraty. 39 (1/2 Oese)*	*lebt*	*Nach 1 Stunde im Exsudat nur Granula. (— 3. I. 05.)*

Tabelle XXIII.

Paratyphusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
65	Paratyphus-Gemisch, Verfütterung	16. XII. 04	Paraty. 140 (1/2 Oese)	† 17. XII.	Nach 1 Stunde im Exsudat ziemlich viel Bakterien; z. Th. beweglich.
66	*Paraty. Gem., Verfütterung*	*16. XII. 04*	*Paraty. 283 (1/2 Oese)*	*lebt*	*Nach 1 Stunde Granula, wenige unbewegl. Bakterien. (— 3. I. 05.)*
67	"	"	*Mäusety. 281*	"	*Nur Granula nach 1 Std. (— 3. I. 05.)*
68	*Paraty. 140*	*21. XII. 04*	*Paraty. 149*	"	*(— 9. I. 05.)*
69	"	"	*Paraty. 218 (durch M. T.-Serum nicht agglutinirt)*	"	*Nach 1 Std. nur Granula. (— 9. I. 05.)*
70	Paraty. 140	21. XII. 04	Ty. 121	† 22. XII.	Nach 1 Stunde massenhaft Bakterien.
71	"	"	Ty. 151	† 24. XII.	Nach 1 Std. neben einzelnen Granula zieml. viel Bakter. 24. XII. Im Exsd. Stäbchen.
72	"	"	Ty. W.	† 22. XII.	Im Exsudat zahlr. bewegl. Stäbchen.
73	*Paraty. 140*	*16. I. 05*	*Paraty. 144 (durch M. T.-Serum nicht agglutinirt)*	*lebt*	*Nach 1 Std. nur Granula. (— 6. II. 05.)*
74	"	"	*Paraty. 215 (durch M. T.-Serum nicht agglutinirt)*	"	" "
75	"	"	*Paraty. 228 (durch M. T.-Serum nicht agglutinirt)*	"	*Nach 1 Std. ganz vereinzelte Bakter., sonst nur Granula. (— 6. II. 05.)*
76	"	"	*Paraty. 282 (durch M. T.-Serum nicht agglutinirt)*	"	*Nach 1 Stunde mässig zahlreiche Granula. (— 6. II. 05.)*
77	*Paraty.-Gem., 10 Stämme*	"	*Enteritis 244 (sehr wenig virul. Stamm)*	"	*Nach 1 Std. zahlr. Bakter. (— 6. II. 05.)*
78	"	"	*Enteritis 266*	"	*Nach 1 Std. nur Granula. (— 6. II. 05.)*
79	"	"	*Enteritis 259*	"	" "
80	"	"	*Enteritis 263*	"	*Nach 1 Stunde vereinzelte Bakterien. Granula. (— 6. II. 05.)*
81	*Paraty. 39*	"	*Enteritis 267*	"	" "
82	"	"	*Enteritis 268*	"	" "

Tabelle XXIII.
Paratyphusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
83	*Paraty.-Gem., 10 Stämme*	*26. I. 05*	*Enteritis 260*	*lebt*	*Nach 1 Std. mässig zahlr. unbewegl. Bakterien. (— 18. II. 05.)*
84	Paraty.-Gem., 10 Stämme	26. I. 05	Enteritis 261	† 27. I.	Nach 1 Stunde zahlreiche bewegliche Bakterien. †. Im Exsudat zahlreiche bewegliche Bakterien.
85	„	„	Enteritis 265	† 28. I.	Nach 1 Stunde noch bewegl. Bakterien, daneben einige Granula. † 28. I. Im Exsudat bewegl. Bakterien.
86	„	„	Enteritis 269	„	Nach 1 Stunde bewegliche Stäbchen. † 28. I. Im Exsudat Bakterien.

Typhus- und Paratyphusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
87	Ty. 3 + P. 140	4. I. 05	Ty. 29	† 5. I. 05	Im Exsudat zahlr. Bakterien.
88	*Ty. 3 + P. 140*	*4. I. 05*	*Paraty. 218*	*lebt*	*Nach 1 Std. steriles Exsudat. (— 19. I. 05.)*
89	„	*5. I. 05*	*Ty. 27*	„	*Nach 1 Std. gute Beeinflussg. (— 19. I. 05.)*
90	„	„	*Ty. 121*	„	*Nach 1 Stunde zwar noch zieml. zahlreiche Bakterien, jedoch unbeweglich. (— 19. I. 05.)*
91	„	„	*Ty. Zeidler*	„	*Nach 1 Std. im Exsudat nur Granula. (— 19. I. 05.)*

Mäusetyphusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
92	Mäusety. 274	24. X. 04	Ty. 69	† 26. X.	Im Exsudat Stäbchen.
93	„	„	„	„	„ „
94	„	11. X. 04	Ty. 101	† 12. X.	Im Exsudat zahlr. Bakterien.
95	*Mäusety. 274*	*11. X. 04*	*Ty. 101*	*lebt*	*Nach 1 Std. wenig Bakt.; Granula; am 24. X. getödtet. Gesund, adhäs. Peritonitis.*
96	„	„	*Paraty. 140 ($^1/_{1000}$ Oese)*	„	*Nach 1 Std. spärl. Granula. 24. X. getödtet, gesund.*
97	„	„	„	„	*Nach 1 Stunde Granula, keine Bakterien. 24. X. lebt, gesund. Getödtet.*



Tabelle XXIII.

Mäusetyphusimmunisirte Meerschweinchen.

Nr.	Immunisirt gegen	Geprüft am	Gegen	Immun	Bemerkungen
98	Mäusety. 274	11. X. 04	Mäusety. 274 (1/3 Oese)	† 17. X.	Nach 1 Stunde wenig unbewegl. Bakterien; Granula. 17. X. Im Exsudat zahlr. Bakterien.
99	*Mäusety. 274*	*11. X. 04*	*Mäusety. 274 1/3 Oese*	*lebt*	*Nach 1 Std. Granula, wenig unbewegliche Bakterien. 2. XI. getödtet; gesund.*
100	Mäusety. 274	11. X. 04.	Enteritis 266	† 12. X.	Nach 1 Std. Exsudat fast steril. 17. X. Im Exsudat zahlreiche Bakterien.
101	*Mäusety. 274*	*11. X. 04*	*Enteritis 266*	*lebt*	*Am 24. X. getödtet. Gesund.*
102	*Mäusety. 274, Verfütterung*	*16. XII. 04*	*Paraty. 39 (1/2 Oese)*	,,	*Nach 1 Stunde Exsudat fast steril. (— 2. I. 05.)*
103	,,	,,	*Paraty. 140 (1/2 Oese)*	,,	*Nach 1 Std. nur Granula. (— 2. I. 05.)*
104	,,	,,	*Paraty. 283 (1/2 Oese)*	,,	*Nach 1 Std. Granula und wenige unbewegl. Bakterien. (— 2. I. 05.)*
105	,,	,,	*Mäusety 281*	,,	,, ,,
106	*Paraty. 140 Verfütterung*	*7. XII. 04*	*Paraty. 140 (1/2 Oese)*	*lebt*	*Nach 1/2 Std. nur Granula. (— 24. XII. 04.)*
107	,,	,,	*Paraty. 218 (1/2 Oese)*	*† 9. XII.*	*Nach 1/2 Std. nur Granula. † 9. XII. Im Exsudat keine Bakterien.*
108	Paraty. 140 Verfütterung	7. XII. 04	Mäusety. 274 (1/2 Oese)	† 9. XII.	Nach 1 Std. fast nur Granula. † 9. XII. Im Exsudat Bakt.
109	*Mäusety. 274 Verfütterung*	*7. XII. 04*	*Paraty. 140 (1/2 Oese)*	*lebt*	*Nur Granula. (— 24. XII. 04.)*
110	,,	,,	*Paraty. 218 (1/2 Oese)*	,,	,, ,,
111	,,	,,	*Mäusety. 274 (1/2 Oese)*	,,	,, ,,

Granula. Bei ausgesprochener Bakteriolyse fand sich häufig eine deutliche Vermehrung der Leukocyten im Exsudat. (Vgl. Tabelle XXIII und XXIV.)

Tabelle XXIV.

Tabellarische Zusammenstellung des bei der activen Immunisirung erreichten Schutzes der einzelnen Bakterienarten gegen einander.

Immunisirung gegen	Geprüft gegen Typhus	Geprüft gegen Paratyphus	Geprüft gegen Mäuse-typhus	Geprüft gegen Enteritis Gärtner	Geprüft gegen Enteritis (Paraty.)
Typhus	23 (1)	4 (4)	5 (5)	—	—
Paratyphus B	3 (3)	13 (1)	6 (0)	4 (3) (1 St. avirulent)	10 (2)
Typhus u. Paratyphus B. .	4 (1)	1 (0)	—		—
Mäusetyphus	4 (3)	3 (0)	2 (1)	—	2 (1)
Enteritis Gärtner	—	—	—	—	—
Paraty. durch Verfütterung	2 (2)	6 (1)	6 (2)	—	—
Mäusety. durch Verfütterung	—	5 (0)	2 (0)	—	1 (0)
Typhus durch Verfütterung	2 (2)	1 (1)	2 (2)	—	—

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die nach der Prüfung nicht immun befundenen Thiere.

Typhus schützte gegen Typhus in 96 Procent, nicht gegen Paratyphus- und Mäusetyphus.

Paratyphus schützte gegen Typhus nicht, dagegen gegen Paratyphus B in 92·5 Procent, gegen Mäusetyphus in 100 Procent, gegen Enteritis Paratyphus in 80 Procent.

Typhus zus. mit Paratyphus schützte gegen Typhus in 75 Procent, gegen Paratyphus in 100 Procent.

Mäusetyphus schützte gegen Typhus in 25 Procent, gegen Paratyphus in 100 Procent, gegen Mäusetyphus in 50 Procent, gegen Enteritis P. in 50 Procent.

Verfütterung von Paratyphus schützte gegen Paratyphus in 90 Procent, gegen Mäusetyphus in 66 Procent, gegen Typhus nicht.

Verfütterung von Mäusetyphus schützte gegen Mäusetyphus in 100 Proc., gegen Paratyphus in 100 Procent, gegen Enteritis P. in 100 Procent.

Verfütterung von Typhus schützte nicht gegen Typhus, Mäusetyphus und Paratyphus.



Betrachtet man das Gesammtergebniss der Immunitätsprüfungen, so ergiebt sich, dass es zweifellos gelingt, in der vorher beschriebenen Weise Meerschweinchen activ gegen Paratyphus und Mäusetyphus zu immunisiren, wie dies gegen Typhus schon längere Zeit bekannt ist. Die gegen Paratyphus B immunisirten Thiere zeigten sich stets gegen sämmtliche geprüften Paratyphus B-Stämme immun. Es war hierbei gleichgültig, ob die Paratyphusstämme durch specifisches Mäusetyphusserum hoch oder wenig agglutinabel waren. (S. Agglutination.) Ferner erwiesen sie sich auch gegen Mäusetyphusbacillen immun und umgekehrt die Mäusetyphusthiere gegen Paratyphus B. Die Paratyphusimmunthiere erwiesen sich ferner immun gegen eine Gruppe von Enteritisstämmen, welche auch von specifischem Paratyphusserum hoch agglutinirt wurden. (Enteritis Nr. 259, 263, 266, 267, 268.) (Vgl. auch diese Gruppe bezüglich Nomenclatur, Virulenz und Pfeiffer'sche Versuche mit specifischem bakteriсidem Immunserum S. 380, Tabelle XXVIII.) Wenn auch hier, wie das ja schliesslich bei activ immunisirten Thieren gerade so wie im Pfeiffer'schen Versuch des Oefteren beobachtet werden kann, noch nachträglich trotz deutlicher Beeinflussung der betreffenden Bakterien im Peritonealexsudat (mikroskopische Controle) einige Thiere eingingen (Giftwirkung, bezw. septicämische Bakterien), so stehen doch dem wieder eine ganze Reihe von Versuchen gegenüber, wo der Schutz quoad vitam der Versuchsthiere ein vollständig sicherer war. Schliesslich darf man auch bei der Beurtheilung der Resultate der Immunisirungsversuche die Thatsache nicht vergessen, dass nicht jedes Thier (Meerschweinchen) sich zur activen Immunisirung eignet, weil es keine oder nur geringe Schutzstoffe zu bilden im Stande ist. Hieraus erklärt sich zwanglos die Erscheinung, dass bei jeder Prüfung von activ immunisirten Thieren stets einige Thiere ausfallen. Das Entscheidende ist auch bei den activ immunisirten Thieren das Eintreten oder Ausbleiben des Pfeiffer'schen Phänomens in der Bauchhöhle in Uebereinstimmung mit dem endgültigen Ausfall d. h., ob die Thiere am Leben oder sterben. Eine andere Gruppe von Enteritisstämmen, welche offenbar dem eigentlichen Bac. Enteritis-Gärtner nahestehen, wurde von den Paratyphusimmunthieren im Peritoneum nicht zur Auflösung gebracht (261, 265, 269). Paratyphus- und Eberth-Gaffky'sche Typhusbacillen erzeugten ferner keine active Immunität gegen einander. Letzteres muss ausdrücklich betont werden den neuerdings von Zupnik[1] aufgestellten Behauptungen gegenüber, nach welchen nicht

[1] A. a. O.



die Art, sondern die Gattungszugehörigkeit einer bestimmten Bakterienart das ausschlaggebende Moment für die Auslösung specifischer Antikörper im Organismus darstellen soll. Nach Zupnik's Ausführungen müsste es möglich sein unter gleichen Versuchsbedingungen, z. B. mit Paratyphusbakterien gegen die gattungsverwandten Typhusbacillen zu immunisiren. Dass letzteres indes nicht der Fall ist, geht zur Genüge aus unseren Versuchsprotokollen hervor.

Im Anschluss hieran sei nochmals hervorgehoben, dass es fast ausnahmslos gelang, Meerschweinchen durch Verfütterung lebender Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen activ gegen beide Bakterienarten, auch wechselseitig zu immunisiren. Je 10 Thiere erhielten ein 24 Stunden bei 37° mit Paratyphus- bezw. Mäusetyphusbacillen gut bewachsenes Kölbchen (Paratyphuscultur 140 und Mäusetyphuscultur 274) schwach alkalische Nährbouillon mit Mohrrübenschnitzeln gut vermischt vorgesetzt. Von den mit Mäusetyphus gefütterten Thieren gingen einige, wie schon oben erwähnt, ein; die mit Paratyphus gefütterten zeigten intra vitam keinerlei wahrnehmbare Krankheitserscheinungen. Bei einigen Paratyphus-Thieren, welche während des Verfütterungsversuches getödtet wurden, fanden sich eine zwar geringe, aber deutliche Schwellung und Entzündung der Peyer'schen Plaques, sonst indess keine pathologischen Veränderungen. Nach 4 Wochen wurden die Thiere auf Immunität geprüft. Bezüglich der Ergebnisse vgl. Tab. XXIII. Die Thiere erwiesen sich, mit zwei Ausnahmen, stets als hochimmun gegen die intraperitoneale Infection mit der 1000- bis 10000-fach tödtlichen Menge Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen und zwar auch wechselseitig. Selbst bei den Thieren, welche der Infection erlagen, hatte sich das Peritonealexsudat nach einer Stunde als fast steril erwiesen, so dass eine sehr deutliche Einwirkung auf die injicirten Bakterien auch in diesen Fällen unverkennbar war.

Das Pfeiffer'sche Phänomen der spec. Bakteriolyse trat bei diesen Fütterungsthieren in so ausgesprochenem Maasse auf, dass schon nach $^1/_2$ Stunde im Peritonealexsudat bei 1 Oese injicirter virulenter Bakterien fast nur Granula vorhanden waren. Gegen einige Typhusstämme erwiesen sich die Paratyphus- und Mäusetyphusfütterungsthiere nicht als immun.

Immunisirungen von Thieren durch Einverleibung von Bakterien sind schon von anderer Seite beschrieben worden. Bei den mit Mäusetyphus gefütterten Thieren lag, wie nach dem Befunde bei den secirten Thieren wohl mit einiger Sicherheit anzunehmen sein dürfte (s. Seite 357), eine Immunität nach richtiger Infection vor, auch bei den mit Paratyphus gefütterten Thieren muss gleichfalls eine Infection, vielleicht auch des Darmepithels, stattgefunden haben, wenn auch die Veränderungen am Darm



geringfügig sind. Während der Fütterung mit Paratyphusbacillen zu verschiedenen Zeiten getödtete Thiere liessen, wie erwähnt, ausser geringer entzündlicher Schwellung der Darmfollikel, pathologisch-anatomische Veränderungen nicht erkennen. Zur weiteren Entscheidung dieser Frage, ob die Immunität bei diesen Thieren auf wirklicher Infection oder nur auf Resorption von immunisirenden Substanzen der im Darm zerfallenen Paratyphusbacillen beruhte, wurden Versuche mit Fütterung abgetödteter Paratyphusbacillen angestellt. Es zeigte sich hierbei an 5 Meerschweinchen, dass keines dieser Thiere, welche zusammen 5 Agarculturen abgetödteter Paratyphusbacillen erhalten hatten, sich bei der nachherigen Prüfung gegen virulente Paratyphusbacillen immun erwies. Dieses Ergebniss spricht allerdings mit einiger Sicherheit dafür, dass nicht etwa die Resorption immunisirender Substanzen von im Darm zerfallenen Bakterien, sondern eine wirkliche an lebende Bakterien gebundene Infection die Immunität hervorgerufen hat.

Analoge Fütterungsversuche zum Zweck der Immunisirung mit Typhusbacillen (gemischte Bouillonculturen der Typhusstämme 27, 29 und 121), welche an 6 Meerschweinchen angestellt wurden, fielen durchaus negativ aus. Es gelang auf diese Weise weder die Thiere gegen Typhus, noch gegen Paratyphus oder Mäusetyphus zu immunisiren. (Vgl. Tabelle XXIII.) Im Peritonealexsudat der geprüften Thiere zeigte sich nicht die geringste Einwirkung auf die betreffenden Bakterienarten.

Baktericide Paratyphus- u. s. w. Sera.

Analog den bei activer Immunisirung von Meerschweinchen mit Paratyphusbacillen erhaltenen positiven Ergebnissen konnte erwartet werden, dass es auch gelingen würde, nicht vorbehandelte Thiere (Meerschweinchen) durch gleichzeitige Einverleibung von künstlich hergestelltem baktericiden Paratyphusserum gegen die tödtliche intraperitoneale Infection mit virulenten Paratyphusbacillen zu schützen.

Es sind bisher eine ganze Anzahl von Versuchen mit Kranken- oder Reconvalescentenseris angestellt und in der Litteratur mitgetheilt. Auf diese wollen wir indes hier nicht näher eingehen, da ihnen für die Frage der Specifität der Paratyphusbacillen als Krankheitserreger, sowie für die Differenzierung und Identificirung derselben eine besondere Bedeutung nicht zugesprochen werden kann, da es sich um Krankensera handelte. Es dürfte heute als feststehend gelten, dass für solche Fragen zweifellos allein künstlich an Thieren hergestellte hochwerthige bakteriolytische Immunsera ausschlaggebend sind.

Ueber Untersuchungen von Paratyphusbacillen behufs Identificirung mit künstlichem baktericidem Kaninchenserum, Titer 1 : 180, berichteten



Conradi, v. Drigalski und v. Jürgens.[1] Sie fanden durch ihr Serum den Eberth-Gaffky'schen Bacillus ebenso hoch beeinflusst. wie den Saarbrückener Paratyphusstamm. Ueber specifische Erscheinungen der Bakteriolyse der Paratyphusbacillen im Meerschweinchenperitoneum wird von ihnen nichts mitgetheilt. Ein hochwerthiges Typhusziegenserum (Titer 1:20000) schützte gegen die Saarbrückener Cultur noch im Verhältniss 1:100.

Um die Beziehungen des Löffler'schen Mäusetyphusbacillus zum Paratyphusbacillus Typus B zu studiren, versuchte zuerst Bonhoff[1], mittels der spec. Bakteriolyse durch ein von ihm hergestelltes künstliches Paratyphusserum (Titer nicht angegeben) die specifischen Bakterien und die Mäusetyphusbacillen im Meerschweinchenperitoneum zur Auflösung zu bringen. Es gelang Bonhoff, mit seinem Serum Meerschweinchen bei der bekannten Anordnung des Pfeiffer'schen Versuches sowohl gegen mehrfach tödtliche Dosen von Paratyphus, als auch Mäusetyphus für einige Tage zu schützen; seine Thiere starben jedoch nach einiger Zeit regelmässig unter starker Vermehrung der betreffenden Bakterien im Thierkörper. Wahrscheinlich war das von ihm angewandte spec. Serum nicht hochwerthig genug, um einen regelmässigen, sicheren Schutz herbeizuführen, denn selbst bei unseren hochwerthigen Seris sehen wir zuweilen ein nachträgliches Absterben der Thiere, eine Erscheinung, welche bei der gleichen Versuchsanordnung bei Choleravibrionen oder Typhusbacillen nicht beobachtet wird. Begründet ist sie zweifellos in der septicämischen Wirkungsweise der Paratyphus- und Mäusetyphusbakterien. Selbst wenn nur wenige Bakterien der Bakteriolyse im Peritoneum entgangen sind, kommen sie nachher wieder zur Vermehrung im Thierkörper und führen den Tod des Versuchsthieres nachträglich herbei.

Die in der Litteratur enthaltenen Angaben lassen also erkennen, dass die Frage nach der Herstellung, Wirkungsweise und praktisch-diagnostischen Verwendbarkeit baktericiden Paratyphusserums noch kaum angeschnitten, geschweige denn eingehend studirt war.

Diese Lücke sollen die folgenden Untersuchungen ausfüllen.

Die Herstellung eines hochwerthigen baktericiden Paratyphusserums gelang an Kaninchen mittels intraperitonealer bezw. subcutaner Injection abgetödteter oder lebender Paratyphusbacillen verhältnissmässig leicht. Bei der intraperitonealen Vorbehandlung erhielten die Thiere zunächst $^1/_4$ Agarcultur abgetödtet (60° 2 Stunden), später $^1/_2$ Cultur, bezw. 1 Cultur; schliesslich $^1/_4$ Cultur lebende Bakterien. Die subcutane Behandlung erfolgte in der Weise, dass von einem Paratyphusstamm von $^1/_{10000}$ Oese

[1] A. a. O.

Virulenz für Meerschweinchen 250 grm intraperitoneal zunächst $^1/_4$, nach 10 Tagen $^1/_2$ Cultur abgetödtet, dann nach weiteren 10 Tagen $^1/_8$ Cultur lebend gegeben wurde; unter Umständen wurde bis $^1/_4$ Cultur lebend gestiegen. Gewöhnlich genügten schon 3 Injectionen zur Erzielung eines hochwerthigen Serums. Auf diese Weise konnte mehrere Male ein Serum von einem Titer von 1:10000 gegen den eigenen Stamm erzeugt werden. Da die Sera stets gegen eine ganze Oese virulenter Paratyphusbacillen im Pfeiffer'schen Versuche austitrirt wurden, hatte von diesem hochwerthigen Serum also bei einer Virulenz des Stammes von $^1/_{10000}$ Oese $^1/_{10}$ mg gegen die 10000 fach tödtliche Dosis der spec. Bakterien geschützt. 0·5 Procent Phenolzusatz zur Conservirung beeinträchtigte, wie zu erwarten war, die Wirksamkeit der Sera in keiner Weise. Die Herstellung der Sera geschah theils mit einem Paratyphusstamm, theils mit einer Combination von Stämmen; in gleicher Weise wurde ein bakteriolytisches Mäusetyphusserum von dem Löffler'schen Mäusetyphusstamm 274 an Kaninchen hergestellt.

Schliesslich wurde noch eine Reihe Paratyphus-, Mäusetyphus- und Enteritisstämme gegen ein hochwerthiges baktericides Typhusserum ausgewerthet. Ferner wurde ein baktericides Serum mit dem Enteritisstamm 266 (Flügge-Känsche) hergestellt, welcher zur Paratyphusgruppe der Enteritisbakterien gehört, und gegen verschiedene Enteritis- sowie Paratyphusstämme geprüft.

Die Untersuchung der einzelnen Sera auf die specifischen Bakteriolysine im Thierexperiment geschah in der bekannten Anordnung des Pfeiffer'schen Versuches. Es wurde festgestellt, bis zu welchen Verdünnungen die einzelnen baktericiden Sera im Stande waren, stets die gleiche Menge (1 Oese) der spec. Bakterien im Meerschweinchenperitoneum zur Auflösung zu bringen. Es wurden zu diesem Zweck $^1/_2$ bezw. 1 Stunde und $1^1/_2$ Stunden nach der Injection mittels steriler Glascapillaren Exsudatproben aus der Peritonealhöhle der Versuchsthiere entnommen und im hängenden Tropfen mikroskopisch untersucht. Als schliessliche Entscheidung des Schutzeffectes galt das Lebenbleiben der spec. Thiere und Eingehen der Controlthiere. Die ersteren starben allerdings zuweilen noch 8—10 Tage nach Anstellung des Versuches, in der grössten Mehrzahl der Fälle blieben sie indess dauernd am Leben. Auf diese Weise war es möglich, die Grenzwerthe der Schutzwirkung (den baktericiden Titer) zu bestimmen. Zu den Versuchen, deren Ergebnisse in den Tab. XXV bis XXX wiedergegeben sind, wurden stets, soweit sich letzteres bei der grossen Anzahl von Thieren durchführen liess, Meerschweinchen von annähernd gleichem Körpergewicht benutzt. Ausserdem wurden stets Controlen mit



normalem Kaninchenserum und Virulenzcontrolthiere angelegt. Letztere sind der Uebersichtlichkeit wegen in den Tabellen fortgelassen.

Allgemein sei zur Bakteriolyse des Paratyphusbacillus bemerkt, dass dieselbe im Exsudat des Meerschweinchenperitoneums ausserordentlich prägnante Bilder giebt, wie man sie sonst nur noch bei der Auflösung der Choleravibrionen durch spec. Serum findet. Sie unterscheidet sich hierdurch nicht unwesentlich von der spec. Bakteriolyse der Typhusbacillen, welche viel langsamer von Statten geht. Das sehr deutliche Auftreten des in allen Phasen des Processes der Bakteriolyse der Choleravibrionen ausserordentlich ähnlichen Phänomens findet vielleicht seine Begründung in der ebenfalls exceptionellen Beweglichkeit dieser beiden Bakterienarten. Die meistens ausserordentlich lebhaft beweglichen Paratyphusbacillen verlieren schon nach kurzer Zeit, etwa 10 Minuten, im Meerschweinchenperitoneum unter der Einwirkung des specifischen Serums vollständig ihre Beweglichkeit; sie verlieren ihre Form, beginnen aufzuquellen und man kann bald, etwa nach 20 Minuten, eine deutliche, schnelle Auflösung der Bakterien bemerken. Von anderer Seite ist die Bakteriolyse mit dem Schmelzen eines Stückes Zuckers in heissem Wasser treffend verglichen worden. Dieser Vergleich trifft auf die Bakteriolyse der Paratyphusbacillen im vollsten Maasse zu. Nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung findet man bei genügend grosser Serummenge in den meisten Fällen fast nur noch Bakterientrümmer, Granula und das voll entwickelte Bild der Bakteriolyse. Von dieser ausgesprochenen Wirkung bis zum völligen Ausbleiben der Bakteriolyse finden sich natürlich je nach der Menge des injicirten spec. Serums alle möglichen Uebergänge, völlige Unbeweglichkeit und theilweise Beweglichkeit der Bakterien neben Bakteriolyse und schliesslich unverminderte Beweglichkeit der Bakterien. Oft fanden sich auch bei unseren Versuchen Grenzwerthe, wo zwar noch deutliche baktericide Wirkung bei der mikroskopischen Untersuchung des Exsudats zu erkennen war, die Thiere indess der Giftwirkung bezw. nachträglichen Vermehrung der Bakterien doch erlagen. Diese Erscheinung bietet indess bei Pfeiffer'schen Versuchen nichts Ungewöhnliches. Ein positiver Ausfall des Pfeiffer'schen Versuches wurde indess in unseren Versuchsreihen nur dann angenommen, wenn das spec. Thier nach Eintritt des Pfeiffer'schen Phänomens auch am Leben geblieben war. (Vgl. Tab. XXV bis XXX.)

Die Betrachtung der Gesammtergebnisse der grossen Reihen Pfeiffer'scher bakteriolytischer Versuche ergiebt zunächst bezüglich der Paratyphusculturen Typus B, dass diese durch ein specifisches bakteriolytisches Paratyphusserum im Meerschweinchenperitoneum sämmtlich zur Auflösung gebracht werden (siehe Tab. XXV). Wir treffen hier also bei der Bakteriolyse



Tabelle XXV.

Baktericides Paratyphus B-Serum und Mäusetyphusserum gegen Paratyphusstämme Typus B.

Paratyphusserum Stamm Nr. 140. Mäusetyphusserum Nr. 274.

Schutzwerthe eines specifischen baktericiden Paratyphus-Kaninchenserums (Titer 1:5000), Mäusetyphusserum (Titer 1:2000).[1]

Lfde. Nr. der Sammlung	Virulenz Me. intraperitoneal	Normales Kaninchen-Serum 0·01 grm	Specifisches baktericides Paratyphusserum Titer 1:5000 0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	0·0001	0·00005	Spec. M.-T.-Serum Titer 1:2000 0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005
			in Gramm								in Gramm				
51	1/500 Oese	†	× ×	× ×	× ×	†					× ×	× ×	× ×	× ×	†
55	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	†						nicht geprüft			
62	1/100 „	†	× ×	× ×	× ×	†						„	„		
128	1/50 „	†	× ×	× ×	†						× ×	× ×	× ×	× ×	†
131	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	†					× ×	× ×	× ×	× ×	†
133	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					*nicht geprüft*			
139	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	†						„	„		
140	1/10000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	[†]	†	× ×	× ×	†		
			eigener Stamm												
143	1/1000 „	†	× ×	× ×	× ×	†						*nicht geprüft*			
144	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					„	„		
168	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					„	„		
170	1/1000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			„	„		
171	1/10000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			„	„		
172	1/1000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†				„	„		
173	1/1000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			„	„		
174	1/1000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†				„	„		
175	1/500 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			„	„		
177	1/1000 „	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			„	„		

[1] Die Serummengen, welche im Pfeiffer'schen Versuch die inficirten Meerschweinchen noch schützten, sind in den Tabellen XXV bis XXX mit × ×, die nicht mehr schützenden Mengen mit † bezeichnet, ein eingerahmtes Kreuz bedeutet, dass zwar deutliche Bakteriolyse im mikroskopischen Bilde vorhanden war, die Thiere indess trotzdem nicht mehr geschützt wurden.

Tabelle XXV. (Fortsetzung.)

Specifisches baktericides Paratyphus B-Serum u. Mäusetyphusserum gegen Paratyphusstämme Typ. B.

Lfde. Nr. der Sammlung	Virulenz für Me. 250 grm	Normales Kaninchen-Serum 0·01 grm	Spec. baktericid. Paratyphus-Kaninch.-Serum Titer 1:5000								Spec. M.-T.-Serum Titer 1:2000				
			0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	0·0001	0·00005	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005
			in Gramm								in Gramm				
178	$^1/_{1000}$ Oese	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					nicht geprüft			
179	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	[†]	†		,, ,,			
180	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†				,, ,,			
215	$^1/_{10000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			,, ,,			
216	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	[†]	†		,, ,,			
217	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	†						,, ,,			
218	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†				,, ,,			
219	$^1/_{10000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	†						,, ,,			
220	$^1/_{100}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			,, ,,			
221	$^1/_{10000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					,, ,,			
222	$^1/_{500}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					,, ,,			
224	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					,, ,,			
225	$^1/_{100000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†				× ×	× ×	†		
226	$^1/_{1000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					nicht geprüft			
227	$^1/_{500}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†					,, ,,			
228	$^1/_{50000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	†				× ×	× ×	× ×	†	
231	$^1/_{10000}$,,	†	× ×	× ×	× ×	†						nicht geprüft			
235	$^1/_{10}$–$^1/_{50}$,,	†	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	†			,, ,,			



Tabelle XXV. (Schluss.)

Specifisches baktericides Paratyphus B-Serum und Mäusetyphusserum gegen Paratyphusstämme Typ. B und gegen Mäusetyphusstämme.

Lfde. Nr. der Sammlung	Virulenz für Meerschweinchen	Normal. Kan.-Ser. 0·01 grm	Specifisches Paratyphus-Kan.-Serum Titer 1:5000								Spec. Mäusetyphusserum Titer 1:2000					
			0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	0·0001	0·00005	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002
			in Gramm								in Gramm					
238	1/1000 Oese	†	××	××	××	××	†				××	××	××	†		
240	1/50 000 ,,	†	××	××	××	××	†				××	××	××	†		
241	1/50 000 ,,	†	××	××	××	××	†				××	××	××	†		
250		†	××	××	××	†					××	××	××	†		
251		†	××	××	××	†					××	××	××	××		
272	1/500 ,,	†	××	××	××	××	××	†					*nicht*	*geprüft*		
273	1/100 000 ,,	†	××	××	××	××	†				××	××	××	××	†	
275	1/100 000 ,,	†	××	××	××	××	†				××	××	××	××	†	
278	1/500 ,,	†	××	××	××	†							*nicht*	*geprüft*		
282	1/1000–1/10000 ,,	†	××	××	××	××	†						,,	,,		
283	1/10 000 ,,	†	××	××	××	××	†				××	××	××	××	†	
284	1/1000–1/10000 ,,	†	××	××	××	××	†						*nicht*	*geprüft*		
285	1/1000 ,,	†	××	××	××	†							,,	,,		
286	1/1000 ,,	†	××	××	××	†							,,	,,		
287	1/50 000 ,,	†	××	××	××	†					××	××	××	†		
289	1/100 000 ,,	†	××	××	××	××	†				××	××	××	†		
M.-T. 274	1/10 000 ,,	†	××	××	××	†					××	××	××	××	××	
M.-T. 281	1/10 ,,	†	××	××	××	××	××	××	[†]		××	××	××	××	[†]	

Tabelle XXVI.

Beeinflussung von Paratyphus B-Stämmen durch baktericide Typhussera im Pfeiffer'schen Versuch.

Lfde. Nr.	Virulenz für Meerschweinchen intraperitoneal	Normal. Kaninchen-Serum 0·01 grm	Baktericides Typhusserum 69. Titer 1:5000					Baktericides Typhusserum 25. Titer 1:5000					Baktericides Typhusserum 126. Titer 1:5000				
			0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005
			in Gramm					in Gramm					in Gramm				
36		†							†								
39		†							†								
171		†						××	†								
140		†							†								
178		†	××	†					†								
179		†	†														
180		†	†														
215		†	××	†					†								
216	Siehe	†	†														
217	Tabelle XXV.	†	†														
218		†	†										†				
219		†	†						†								
220		†	†														
221		†	†														
225		†						××	†		†						
227		†											†				
228		†							†								
283		†						†	†		†						
289		†									†						

Tabelle XXVII.
Specifische Beeinflussung von hochvirulenten Typhusstämmen durch baktericides specifisches Paratyphus B-Serum. Stamm Nr. 140.

Lfde. Nr.	Virulenz	Normales Kaninchen-Serum 0·01 grm	Specifisches baktericides Paratyphusserum Titer 1:5000							Specifisches Mäusetyphusserum Titer 1:2000				
			0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	0·00001	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005
			in Gramm							in Gramm				
27	1/20 Oese	†	†							†				
29		†	†							†				
49		†	××	†						†				
52	1/30 "	†	†											
59	1/100 "	†	†											
69		†	××	†										
71		†	†											
73		†	†											
121		†	†											
125		†	†											
136		†	†											
137		†	†											
150		†	†											
194		†	××	†										
213		†	××	†										
234		†	†											
236		†	†											

Tabelle XXVIII. Baktericides Paratyphusserum und Mäusetyphusserum gegen Enteritisstämme im Pfeiffer'schen Versuch. (Titer des Serums 1:5000 bezw. 1:2000.)

Lfde. Nr. der Sammlung	Virulenz für Meerschweinch. intraperit.	Norm. Kan.-Serum 0·01 g	Specifisches Paratyphusserum Titer 1:5000 in Gramm								Spec. baktericid. Mäusetyphusserum Titer 1:2000 in Gramm							
			0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	0·0001	0·00005	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	0·0001	0·00005
244 Gärtner	$^1/_2$–$^1/_4$ Oese	××	××	†							avirulent							
248 Rumfleth	$^1/_2$–$^1/_4$ „	† ×	××	†							„							
249 Haustedt	$^1/_4$–$^1/_8$ „	†	†	†							†	†						
259 Smith	$^1/_{1000}$ „	†	××	××	××	××	××	†			××	××	××	××	××			
260 Morseele	$^1/_{100}$ „	†	†	†							†	†						
261 Brüssel	$^1/_{10000}$ „ (48 Std.)	†	†	†							†	†						
263 Calmphont	$^1/_{10000}$ „	†	××	××	××	†					××	××	××					
264 Gent	$^1/_{1000}$ „	†	†	†							†	†						
265 Brügge	$^1/_{20}$ „	†	†	†							†	†						
266 Flügge-Känsche	$^1/_4$–$^1/_8$ „	†	××	××	××	××	××	†			××	××	××					
267 Meiselbeck	$^1/_{1000}$ „	†	××	××	××	××	××	†			××	××	××					
268 Girault	$^1/_{10000}$ „	†	××	××	××	××	××	†			××	××	××					
269 Durham	$^1/_{100}$ „	†	†	†							†	†						
271 Günther	$^1/_{100}$ „	†	××	××	××	××	××	†			××	××	××					
Neunkirchen	$^1/_4$ „	†	[illegible]	××	×	[illegible]					nicht geprüft							

Tabelle XXIX.

Bakteriolytisches Enteritisserum 266 (Flügge-Känsche) gegenüber verschiedenen Enteritisstämmen beider Gruppen, sowie einigen Paratyphusculturen. (Titer des Serums 1:1000.)

Lfde. Nr.	Virulenz	Normales Kaninchenserum 0·01 grm	Spec. bakter. Kan.-Ser. 266. Titer 1:1000				
			0·01	0·005	0·002	0·001	
			in Gramm				
260 (Morseele)	1/100 Oese	†	†				
261 (Brüssel)	1/10000 „	†	†				
263 (Calmphont)	1/10000 „	†	××	××	××	××	†
264 (Gent)	1/1000 „	†	†				
268 (Girault)	1/10000 „	†	××	××	××	××	†
271 (Günther)	1/100 „	†	××	××	××	†	
266 (Flügge-Känsche)	1/4 „	†	××	××	××	××	†
275 (Paratyphus)	1/100000 „	†	××	××	××	××	†
282 (Paratyphus)	1/1000–1/10000 „	†	××	××	××	†	
283 (Paratyphus)	1/100000 „	†	××	××	××	†	

Tabelle XXX.

Beeinflussung von durch spec. agglut. Typhusserum agglutinabeln Enteritisstämmen (Gärtner-Gruppe) durch bakt. Typhusserum. Stamm Nr. 2.

Lfde. Nr.	Virulenz intraperiton. für Meerschweinchen	Normales Kaninchenserum 0·01 grm	Spec. bakt. Typusserum 2. Titer 1:5000				
			0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005
			in Gramm				
260	1/100–1/500 Oese	†		†	†		
264	1/1000 „	†	××	××	†		
269	1/100 „	†	××	××	××	†	
249	1/4–1/8 „	†	××	××	××	××	†
259	1/1000 „	†	××	××	××	†	
265	1/20 „	†	××	××	××	××	†
261	1/1000 „	†		†	†		

nicht auf derartig grosse Verschiedenheiten in der Beeinflussung, wie sie neuerdings für Typhusstämme verschiedener Herkunft einem und demselben baktericiden Serum gegenüber von **Besserer** und **Jaffé**[1] beobachtet worden sind, wo zuweilen einzelne echte Typhusstämme sich als überhaupt nicht beeinflussbar durch dasselbe erwiesen. Die Beeinflussung der einzelnen Paratyphusstämme im Pfeiffer'schen Versuch ist zwar nicht eine so gleichmässige, wie bei der spec. Agglutination, jedoch wurden von 52 untersuchten Stämmen von einem Serum, das einen Titer von 1 : 5000 besass, nur 1 Stamm (1·9 Procent) bis 1 : 200, 15 (28·8 Procent) bis 1 : 500 und der Rest (70 Procent) bis zur Verdünnung des Serums von 1 : 1000 und zum grossen Theil noch darüber hinaus zur Auflösung gebracht (9 = 19·2 Procent bis zur Titergrenze). Beziehungen zwischen Bakteriolyse und Virulenz bestehen offenbar nicht. Man sieht nämlich, dass sehr virulente Stämme von demselben Serum zum Theil stark, theilweise relativ wenig beeinflusst (171 und 231) werden. Dasselbe beobachtet man bei Stämmen mit geringer Virulenz (55 und 175).

Die spec. Bakteriolyse steht also offenbar nur in Beziehungen zum Bakterienreceptorenapparat, dessen Reichhaltigkeit einerseits und der Zahl der zu ihnen passenden Amboceptoren des Serums andererseits (Bindungsfähigkeit des betreffenden Stammes) ohne Rücksicht auf die Virulenz.

Das baktericide Mäusetyphusserum, hergestellt mit Mäusetyphusstamm 274, beeinflusste den anderen virulenten Mäusetyphusstamm unserer Sammlung (281) bei einem Titer von 1 : 2000 bis zur Titergrenze.

Dieselbe Erscheinung der gegenseitigen starken Beeinflussung zwischen Paratyphus- und Mäusetyphusculturen, welche schon bei der Prüfung der activ immunisirten Meerschweinchen beobachtet werden konnte, wurde auch hier bei der Auswerthung der spec. bakteriolytischen Sera im Pfeiffer'schen Versuch wieder festgestellt, s. Tabelle XXV. Der Mäusetyphusstamm (274) wurde bis zur Verdünnung 1 : 500, der andere (281) sogar bis zur Titergrenze vom baktericiden Paratyphusserum zur Auflösung gebracht, umgekehrt zeigten sich sämmtliche gegen baktericides Mäusetyphusserum (Stamm 274, Titer 1:2000) ausgewertheten Paratyphusstämme (16 Stichproben) specifisch durch dasselbe beeinflussbar; dem niedrigeren Serumtiter entsprechend liegen naturgemäss die Grenzwerthe der Bakteriolyse hier meistens etwas niedriger als bei derjenigen durch das Paratyphusserum; mit wenigen Ausnahmen (140, 225) entsprechen sie jedoch im Verhältniss genau den durch das letztere Serum erzielten.

Ein Unterschied in der baktericiden Beeinflussbarkeit der Paratyphusstämme durch Mäusetyphusserum, wie bei der Agglutination, trat nicht zu Tage.

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905.



Die Beeinflussung der Paratyphusstämme durch hochwerthige baktericide Typhussera war eine sehr geringe, so dass man von einer geringen Gruppenbeeinflussung sprechen kann. Entsprechend der schon bei der Agglutination beobachteten Erscheinung der geringfügigen gegenseitigen Beeinflussung beider Bakterienarten war ja schliesslich eine solche bezüglich der Bakteriolyse bis zu einem gewissen Grade vorauszusehen.

Es machen indess diese geringfügigen gegenseitigen Einwirkungen natürlich trotzdem das Arbeiten mit einem wirklich hochwerthigen Serum durchaus nothwendig und ferner das Auswerthen der Stämme bis zur Titergrenze. Nur auf diese Weise wird man sich sicher vor Täuschungen schützen können. Eine grössere Reihe Pfeiffer'scher Versuche dieser Art finden sich in der Tabelle XXVI.

Umgekehrt wurde eine gewisse Anzahl namentlich hochvirulenter Typhusculturen mit baktericidem Paratyphus- und Mäusetyphusserum geprüft. Hier zeigten sich dieselben Verhältnisse: zuweilen eine geringe Mitbeeinflussung (Tabelle XXVII).

Die Verwendung eines hochwerthigen Serums, sowie die Austitrirung der Stämme ist naturgemäss auch hierbei eine nicht zu vernachlässigende Forderung. Diejenigen Stämme, welche eine gewisse, wenn auch geringfügige gegenseitige Beeinflussung erkennen liessen, werden weiterhin Gegenstand eingehender Untersuchungen in Bezug auf ihre gegenseitigen immunisatorischen Beziehungen sein. Wir behalten uns vor, unsere diesbezüglichen Untersuchungen, welche vorläufig noch nicht abgeschlossen sind, an einer späteren Stelle zu veröffentlichen.

Als eine Probe auf's Exempel bezüglich der Specificität der Immunitätsreactionen sind die Ergebnisse zu betrachten, welche die Prüfung der Enteritisstämme im Pfeiffer'schen Versuch mit Paratyphusserum (s. Tabelle XXVIII) und Mäusetyphusserum gezeitigt hat. Man kann nach dem Ausfall des Pfeiffer'schen Versuches zwei Gruppen der Enteritisstämme von einander trennen, welche genau denjenigen entsprechen, welche bei der spec. Agglutination zu Tage getreten waren (siehe S. 336). Als durch Paratyphusserum in stärkerer Verdünnung auflösbar erwiesen sich die Stämme 259 (Smith), 263 (Calmphout), 266 (Flügge-Känsche), 267 (Meirelbeck), 268 (Sirault) und 271 (Günther), Neunkirchen (v. Drigalski) und Düsseldorf (Trautmann); nicht beeinflusst wurden die Enteritisstämme 249 (Haustedt), 260 (Moorseele); 261 (Brüssel); 264 (Gent), 265 (Brügge), 269 (Durham); die beiden Stämme Gärtner (244) und Rumfleth (248) besassen eine sehr geringe Virulenz und wurden schon durch normales Kaninchenserum in der Verdünnung 1:100 im Meerschweinchenperitoneum zur Auflösung gebracht. Die Gärtnerstämme 243 und 262 kamen wegen vollständigen Virulenz-



mangels bei der Prüfung leider ebenfalls nicht in Frage. Genau analoge Verhältnisse der spec. Bakteriolyse sehen wir auch bei der Auswerthung der Enteritisgruppe gegen baktericides Mäusetyphusserum (Tabelle XXVIII). Dem etwas niedrigeren Titer des Mäusetyphusserums entsprechend liegen hier die Grenzen der Beeinflussung etwas tiefer als beim Paratyphusserum. Bemerkenswerth ist jedoch auch hier die scharfe Gruppentrennung. Die beiden Stämme 244 und 248 konnten nicht geprüft werden, da sie zur Zeit der Versuche ihre Virulenz für Meerschweinchen fast völlig eingebüsst hatten.

Weitere Versuche mit baktericidem Serum, das mit der zur Paratyphusgruppe der Enteritisstämme gehörigen Cultur Flügge-Känsche hergestellt war, Titer 1:1000, ergaben eine durchgehende Beeinflussung von Stichproben der zu dieser Gruppe gehörigen Enteritisstämme (263. 267. 271), ebenso mehrerer Paratyphusculturen (275, 282, 283), während sich auf verschiedene zur Gruppe II der Enteritisstämme vom Typus Gärtner (260, 261, 264) keine Einwirkung zeigte (siehe Tabelle XXIX). Wir sehen also auch hier wieder mit Hülfe eines Serums der Paratyphusenteritisgruppe eine scharfe Trennung der Bakterien der Enteritisgruppe genau in derselben Weise, wie sie durch baktericides Paratyphusserum herbeigeführt war. Dieselben Verhältnisse traten bei der Agglutination der Gruppe durch agglutinirendes Serum 266 zu Tage (s. S. 339).

Weitere baktericide Versuche im Thierexperiment wurden mit einer Reihe von Enteritisstämmen ausgeführt (Tabelle XXX), die durch spec. agglutinirendes Typhusserum ziemlich hoch (halbe Titerhöhe) agglutinirt wurden. Diese Gruppe entspricht genau denjenigen Stämmen, welche durch baktericides Paratyphusserum nicht beeinflusst worden waren (vgl. Tabelle XXVIII). Auch hier stellte sich eine vollkommene Congruenz zwischen Agglutination und Bakteriolyse heraus. Sämmtliche Stämme erwiesen sich im Pfeiffer'schen Versuch als durch spec. baktericides Typhusserum deutlich beeinflussbar, und zwar in dem Maasse, dass namentlich mit Rücksicht auf die ungleichmässige Bakteriolyse, welche echte Typhusstämme verschiedener Provenienz durch ein und dasselbe baktericide specifische Typhusserum erleiden, auch die specifische Immunitätsreaction der Bakteriolyse zweifellos nicht als alleiniges sicheres Differenzirungsmittel zwischen echten Typhusstämmen und Bakterien der Gärtner-Gruppe herangezogen werden kann, insofern als eine ziemlich hohe Mitbeeinflussung der letzteren durch baktericides Typhusserum stattfindet.



Zusammenfassung.

A. Culturelles.

1. Culturell sind die Erreger des Paratyphus B, des Mäusetyphus und der Fleischvergiftung (Enteritisbakterien) nicht von einander zu trennen.

2. Wohl aber sind sie allein durch culturelle Untersuchungen scharf vom Typhusbacillus, vom Paratyphusbacillus A, Bac. dysenteriae, vom Bacterium coli zu differenziren.

3. Die besten Dienste leistet bei dieser Differenzirung der Lackmusmilchzuckeragar, die Lackmusmolke, Milch und der Neutralrothagar.

B. Agglutination.

1. Bei Agglutinationsversuchen haben die Bakterien des Paratyphus B nur geringe individuelle Unterschiede gezeigt.

a) Gegenüber Paratyphus B- und Enteritissera (Typus I) verhalten sich alle Stämme annähernd gleich. Die Unterschiede in der Agglutinabilität sind verschwindend.

b) Von Typhussera werden alle Paratyphus B-Stämme gleichmässig in geringem Grade beeinflusst (Mitagglutination).

c) Die Mitagglutination durch Paratyphus A-Sera ist inconstant und sehr niedrig.

d) Bei der Agglutination mit Mäusetyphussera zeigen sich Unterschiede: ein Theil der Paratyphus B-Stämme wird von den Mäusetyphussera bis zur Titergrenze beeinflusst, ein anderer nur in dem Grade, wie durch Typhussera mitagglutinirt. Zwischen diesen beiden Gruppen giebt es Uebergänge. Zwei Sera, die mit demselben Stamm hergestellt waren, zeigten in ihrer Agglutinationskraft auf Paratyphus B-Culturen Unterschiede. Es deutet das darauf hin, dass nicht in allen Thieren die geeigneten Receptoren bezw. Agglutininbildner vorhanden sind. Darnach erscheint die Annahme gerechtfertigt, dass bei Vorbehandlung anderer Thiere, bezw. bei längerer Immunisirung (die zu den Agglutinationsversuchen verwandten Mäusetyphussera hatten einen verhältnissmässig niederen Titer) Sera erzielt worden wären, bei denen sich die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen noch mehr verwischt hätten. Diese Annahme wird dadurch gestützt, dass bei baktericiden Versuchen mit Mäusetyphussera diese Gruppen nicht zu Tage traten. Auch ergab die Agglutination der Paratyphus B-Stämme unter einander keinerlei Unterschiede. Eine weitere Stütze ist in dem Verhalten der Mäusetyphus- und Enteritis (Gruppe I)-Culturen gegenüber Paratyphus B-Sera gegeben.



Neuere Untersuchungen von Friedberger[1], über Rassenunterschiede der Typhusbacillen, von Meinicke, Jaffé u. Flemming[2] über Choleravibrionen, Kutscher, Lentz u. Meinicke[3] über Typhusbacillen, sowie von Spirlas[3] über Paratyphusbacillen, sprechen dafür, dass wohl der Receptorenapparat für alle die genannten Bakterienarten einheitlich sein kann, dass aber die Avidität der an sich gleichen Receptoren grossen Schwankungen unterworfen ist. Mit dieser Erklärung dürfte auch für die paradoxe Beobachtung der Differenzen in der Agglutination von Paratyphusbacillen durch Mäusetyphusserum das Richtige getroffen sein.

2. Die vier Mäusetyphusstämme verhalten sich in ihrer Agglutinabilität vollkommen gleich.

a) Sie werden von allen Paratyphussera gleichmässig bis zur Titerdosis agglutinirt.

Es ist dabei ganz gleichgültig, ob das Paratyphusserum mit einem Stamm hergestellt ist, der von Mäusetyphusserum hoch beeinflusst wird oder nicht.

b) Die beiden Mäusetyphussera agglutiniren die vier Stämme ganz gleichmässig.

c) Auch bei der Auswerthung mit Enteritisserum (Gruppe I) treten keine Unterschiede zu Tage. Alle Stämme zeigen bis zur Titergrenze positive Reaction.

d) Gegenüber Typhussera und Paratyphus A-Sera verhalten sich die Mäusetyphusculturen wie Paratyphus B-Stämme, d. h. sie zeigen mehr oder weniger ausgeprägte Mitagglutination.

3. Die Enteritisstämme lassen sich durch die Agglutination mit verschiedenen Sera in zwei Gruppen trennen.

a) Die eine Gruppe (I) verhält sich ganz wie Paratyphus B- bezw. Mäusetyphusbacillen.

b) Die Vertreter der anderen, Gruppe II, werden durch Paratyphus B-, Mäusetyphus- und Enteritis I-Sera nur in ganz geringem Grade mitagglutinirt. Stark dagegen werden sie von den verschiedensten Typhussera beeinflusst. Allein durch die Agglutination sind sie nicht sicher von allen Typhusbacillen zu trennen, da sie unter Umständen ebenso stark vom Typhusserum beeinflusst werden wie schwer agglutinable Typhusculturen. Es handelt sich hier um eine Mitagglutination oder Gruppenagglutination, die aber in keinem Widerspruch zu der Behauptung steht, dass die Agglutination mit wenigen Ausnahmen auch hier eine Differenzirung der Arten gestattet.

[1] *Festschrift* für Salkowsky.

[2] *Diese Zeitschrift.* 1906.

[3] Wird demnächst veröffentlicht.



4. Die **Paratyphus** A-Bacillen zeigen in Agglutinationsversuchen keine nahen Beziehungen zu den anderen untersuchten Bakterien. Sie werden von Paratyphus B-, Mäusetyphus-, Typhus- und Enteritissera nur in ganz geringem Grade mitagglutinirt.

5. Bei keiner der untersuchten Bakterienarten zeigen sich gesetzmässige Beziehungen zwischen Agglutinabilität und Virulenz der Culturen.

6. Polyvalente Sera geben die nämlichen Resultate wie monovalente.

7. Normalserum der verschiedenen Thierarten (Pferd, Kaninchen) agglutinirt die untersuchten Bakterien in der Verdünnung 1:50 nicht.

8. Specifisches mit fernstehenden Bakterienarten, wie Choleravibrionen oder Staphylokokken hergestelltes Serum zeigt eine etwas höhere Agglutinationskraft. Doch ist auch hier eine Serumverdünnung von 1:100 stets unwirksam.

C. Virulenz und Pathogenität.

1. Die **Paratyphusbakterien** Typus B zeichnen sich durch eine ziemlich **beträchtliche Virulenz** für Meerschweinchen und weisse Mäuse aus, namentlich bei intraperitonealer Infection. Aber auch bei subcutaner Infection genügen häufig schon kleinste Mengen ($^1/_{100}$ Oese) gut virulenter Culturen, um die genannten Thiere zu tödten.

2. Namentlich durch die starke Infectiosität vom Unterhautzellgewebe aus unterscheiden sich die Paratyphusbakterien Typus B vom Typhusbacillus; bei der intraperitonealen Infection mit Typhusbacillen wird in der Regel für Meerschweinchen von 250 ^{grm} Körpergewicht die höchste Virulenz der Culturen mit $^1/_{30}$, in seltenen Ausnahmen mit $^1/_{100}$ Oese erreicht, während die Virulenz der Paratyphusbakterien Typus B unter gleichen Infectionsbedingungen selten unter $^1/_{1000}$ Oese, oft aber noch bei $^1/_{10000}$ bis $^1/_{100000}$ Oese liegt.

3. Bei schnellem tödtlichen Verlauf der Infection vom Peritoneum aus gehen die inficirten Thiere unter Intoxicationserscheinungen mit Vermehrung der Bakterien im Blut und den inneren Organen zu Grunde. Bei subcutaner Infection findet man häufiger einen chronischen Verlauf, bei welchem an der Infectionsstelle stets ein sulziges, hämorrhagisches Infiltrat, das allmählich eitrig-käsig wird, entsteht und nicht selten Abscesse in Leber und Milz gebildet werden und ebenfalls eine starke Vermehrung der Bakterien im Blut stattfindet (Septicämie).

4. Weniger empfänglich als Meerschweinchen und weisse Mäuse für Paratyphusbakterien Typus B erweisen sich Kaninchen, noch weniger Ratten. Letztere vom Subcutangewebe aus zu inficiren, gelingt selbst mit sehr grossen Dosen nicht.

5. Refractär scheinen sich Vögel zu verhalten (Tauben, Hühner).



6. Bezüglich seiner Pathogenität analog dem Paratyphusbacillus verhält sich der Löffler'sche Mäusetyphusbacillus.

7. Verfütterungsversuche an weissen Mäusen fielen ebenso wie mit Mäusetyphus, so auch mit einigen Paratyphusstämmen positiv aus. Nicht alle Paratyphusculturen, mögen sie unter anderen Infectionsbedingungen sich als hochvirulent erweisen, eignen sich jedoch für die Infection von Mäusen per os.

8. Während es gelang, Meerschweinchen durch Verfütterung von Mäusetyphusbacillen zu tödten, wurden diese Thiere zwar durch Verfütterung von Paratyphusbacillen inficirt (spätere Immunität), starben jedoch nicht in Folge der Infection.

11. Auch vom Subcutangewebe aus gelang es zwar nicht, grössere Thiere mit Paratyphusbakterien tödtlich zu inficiren. Es soll indess durchaus die Möglichkeit offen gelassen werden, dass unter besonderen Infectionsbedingungen, z. B. bei Rindern vom Euter oder von der Gebärmutterinnenfläche aus post partum spontane Infectionen vorkommen. Nach dem Genuss des Fleisches dieser Thiere könnte dann beim Menschen sogen. Fleischvergiftung hervorgerufen werden.

9. Grössere Thiere (Pferde, Esel, Hunde, Ziegen, Schafe, Kälber) gelang es nicht durch Verfütterung von virulenten Paratyphusbakterien tödtlich zu inficiren. Namentlich jüngere Thiere zeigten zwar nach Verfütterung grosser Mengen virulenter Culturen vorübergehende Krankheitserscheinungen, gingen jedoch nicht ein. In dem Blut und den Abgängen dieser Thiere waren Paratyphusbacillen niemals nachweisbar.

10. Man kann daher wohl mit Recht annehmen, dass der Paratyphus keine Thierkrankheit sui generis ist.

12. Bezüglich der Verfütterung von Mäusetyphusbakterien an grössere Thiere liegen von R. Pfeiffer Versuche vor, welche sich mit den unserigen bezüglich Paratyphusbakterien fast vollständig decken.

13. Der Paratyphusbacillus B bildet im Allgemeinen keine hitzebeständigen Toxine. Die Frage, ob ganz frisch aus dem Körper isolirte Stämme in den ersten Generationen diese Eigenschaft besitzen, wollen wir offen lassen.

14. Die Virulenz der Enteritisbakterien Gruppe I (Paratyphusgruppe) entspricht bei intraperitonealer Infection von Meerschweinchen durchaus derjenigen, welche für Paratyphus B beobachtet worden ist.

D. Active Immunisirung.

1. Es gelingt sicher, Meerschweinchen durch subcutane Injection von abgetödteten und lebenden Paratyphus B- und Mäusetyphusbakterien gegen die genannten Bakterienarten auch wechselseitig activ zu immunisiren.



Auf diese Weise vorbehandelte Thiere erlangen Immunität gleichzeitig auch gegen eine bestimmte Gruppe von Enteritisbakterien (Paratyphus-Gruppe I).

2. Diese Immunität lässt sich bei Paratyphus- und Mäusetyphusbakterien auch mittels einmaliger Verfütterung lebender Culturen der genannten Bakterienarten bei Meerschweinchen hervorrufen.

3. Die activ gegen Paratyphus und Mäusetyphus immunisirten Meerschweinchen zeigen, soweit bisher beobachtet werden konnte, keine Immunität gegen Typhusbakterien und die Bakterien der Enteritis-Gruppe II (Gärtner-Typus).

4. Die active Immunisirung von Meerschweinchen lässt sich daher mit Erfolg zur Differenzirung von Paratyphus, Mäusetyphus und Enteritis I (Paratyphus-Gruppe) einerseits und Typhus und Enteritis II (Gärtner-Gruppe) andererseits verwerthen.

E. Bakteriolyse.

1. Entsprechend den bei der activen Immunisirung mit den genannten Bakterienarten an Meerschweinchen gemachten Beobachtungen sehen wir bei der passiven Immunität im Pfeiffer'schen Versuch eine Schutzwirkung von specifischen bakteriolytischen, durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Paratyphus B-, Mäusetyphus- und Enteritis I- (Paratyphus B-Gruppe) Bakterien gewonnenen Sera gegen die homologen Bakterienarten und wechselseitig. Beziehungen zwischen Virulenz und Beeinflussung durch bakteri̇cide Paratyphus B-, Mäusetyphus-, Enteritis I-Sera bestehen offenbar nicht. Baktericides Paratyphus- u. s. w. Serum schützt dagegen nicht oder nur in sehr geringem Umfang (starke Concentration) gegen den Eberth-Gaffky'schen Typhusbacillus und gegen die Bakterien der Enteritis II-(Gärtner) Gruppe.

2. Die specifische Bakteriolyse durch hochwerthiges baktericides Paratyphus B-, Mäusetyphus-, Enteritis I-(Paratyphus-Gruppe) Serum vollzieht sich im Meerschweinchenperitoneum schnell und in der für die Choleravibrionen bekannten typischen Weise. Es kommt gerade bei den Bakterien der Paratyphus-Gruppe selbst bei Anwendung hochwerthigster bakteriolytischer Sera häufiger vor, dass die Thiere eingehen, obgleich das Phänomen der Bakteriolyse im Peritoneum in der ausgesprochensten Weise vorhanden war. Diese Erscheinung findet darin ihre Erklärung, dass die Thiere oft den freiwerdenden Endotoxinen erliegen und dass ferner häufig bei hochvirulenten Bakterien ($^1/_{100000}$ Normalöse) im Gegensatz zum Typhusbacillus und Choleravibrio wenige der Bakteriolyse entgehende



Bakterien durch nachträgliche Vermehrung noch nach längerer Zeit, 8 bis 10 Tagen, den Tod der Thiere herbeiführen können.

3. Bakteriolytische Typhussera schützen umgekehrt ebenfalls nicht oder nur in sehr geringem Umfange gegen die Bakterien der Paratyphus B- u. s. w. Gruppe, dagegen lösen sie ebenfalls die Bakterien der Enteritis II-(Gärtner) Gruppe im Meerschweinchenperitoneum in nahezu demselben Maasse auf, wie echte Typhusbakterien.

4. Hieraus ergiebt sich, dass

a) bei Versuchen, die zur Differenzirung der genannten Bakterienarten mit specifischen bakteriolytischen Sera angestellt werden, stets die Grenzwerthe der Bakteriolyse zu ermitteln sind;

b) sich dann die specifischen Bakteriolysine künstlich an Thieren hergestellter hochwerthiger Sera zur Differenzirung der Paratyphus-, Mäusetyphus- und Enteritis I-(Paratyphus-Gruppe) Bakterien einerseits und der Typhus- und der Enteritis II-(Gärtner) Bakterien andererseits verwerthen lassen;

c) Typhus- und Enteritis II (Gärtner) sich wegen der hohen Gruppenbeeinflussung mittels der specifischen Bakteriolysine allein nicht in allen Fällen sicher differenziren lassen; ebenso wenig lassen sich Paratyphus B-, Mäusetyphus- und Enteritis I-(Paratyphus-Gruppe) Bakterien durch specifische Bakteriolysine oder Prüfung activ immunisirter Thiere von einander unterscheiden.

5. Diese mit Hülfe der specifischen Bakteriolyse festgestellten immunisatorischen Beziehungen der genannten Bakterienarten zu einander entsprechen vollständig den durch die Prüfung der activen Immunität und durch die specifische Agglutination gewonnenen Ergebnissen.

F. Allgemeine Betrachtungen.

1. Die Bacillen der Paratyphus B-, der Mäusetyphus- und der Enteritisgruppe I lassen sich mit den heute bekannten bakteriologischen Methoden scharf vom Typhusbacillus, vom Bacterium coli, Bac. dysenteriae und Paratyphusbacillus Typus A trennen.

2. Eine Differenzirung der Erreger des Paratyphus B, des Mäusetyphus und der Fleischvergiftungen (Gruppe I) ist zur Zeit nicht möglich.

3. Alle von uns angestellten Versuche zeigen, dass Paratyphus B und Enteritisbacillen (Typus I) als identisch zu betrachten sind. Es wäre ja immerhin denkbar, dass frisch aus dem Menschen isolirte Enteritisculturen immunisatorische und biologische Unterschiede von den in unseren Versuchen benutzten Culturen aufwiesen. Nach unseren Versuchen mit Paratyphus B-Bacillen, die erst einige Monate lang auf künstlichen Näh-



böden fortgezüchtet waren, und älteren Laboratoriumsculturen der Enteritisgruppe sind weder der Paratyphus B-Bacillus noch die Vertreter der Enteritisgruppe I für grössere Versuchsthiere (Schlachtthiere) unter gewöhnlichen natürlichen Bedingungen pathogen. Die Möglichkeit spontaner Infection, z. B. der Rinder vom Euter (Abscess, Entzündung), der Gebärmutter oder dem Nabel aus, ist hierdurch nicht auszuschliessen. Man wird indessen die Annahme nicht von der Hand weisen können, dass Erkrankungen beim Menschen, sogen. Fleischvergiftungen, bei denen diese Bakterien isolirt wurden, der Mehrzahl nach durch Verunreinigung der betreffenden Nahrungsmittel nach dem Tode der Thiere herbeigeführt wurden. Wenn gleich die hier gemachten Beobachtungen keine Anhaltspunkte für Variabilität essentieller Eigenschaften von Bakterien dieser Gruppe bei Fortzüchtung aufweisen, wird es sich doch empfehlen, ganz frisch gewonnene Enteritis- (Gruppe I) und Paratyphusculturen auf diese Punkte (besondere Infectionswege) zu untersuchen.

4. Die Unterschiede, welche sich bei der Agglutination von Paratyphus B-Bacillen mit Mäusetyphussera ergeben haben, genügen zu einer sicheren Abgrenzung der beiden Gruppen nicht, zumal ausgedehnte Thierversuche dargethan haben, dass die genannten Bakterien in immunisatorischer Beziehung eine völlige Uebereinstimmung zeigen. Andererseits erscheint es nach dem heutigen Stande der Immunitätslehre nothwendig, die Erreger des Paratyphus B und des Mäusetyphus ohne Weiteres für identisch zu erklären. Wenn auf die Thatsache hingewiesen werden sollte, dass trotz ausserordentlich grosser Infectionsgelegenheit bei der Mäusevertilgung in den verschiedenen Ländern in der Litteratur Paratyphus-ähnliche Erkrankungen oder Epidemieen unter den der Infection ausgesetzten Menschen nicht beschrieben worden sind, — auch die bekannten angeblich durch Mäusetyphusbacillen hervorgerufenen, von Trommsdorff[1] beschriebenen Infectionen scheinen in ihrer Aetiologie nach dem genannten Autor selbst noch keineswegs einwandsfrei geklärt, — so kann eine zwangslose Erklärung hierfür dadurch gegeben werden, dass es sich beim Mäusetyphusbacillus um einen für Menschen apathogenen Paratyphusbacillus handelt. Auch wenn man andererseits den Umstand in Rechnung zieht, dass auch Paratyphusculturen umgekehrt Mäuse bei Verfütterung wie Mäusetyphusculturen tödten, so lässt sich das verschiedene Verhalten der Mäusetyphus- und Paratyphusbacillen dem Menschen gegenüber ungezwungen durch graduelle Unterschiede erklären, die nach der Ehrlich'schen Theorie in der Qualität des Receptorenapparates begründet sind.

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 48.



5. Die zur Enteritisgruppe II gehörenden Bakterien lassen sich culturell nicht von denen der Gruppe I und den Mäusetyphus- und Paratyphus B-Bacillen abtrennen, wohl aber mit den Immunitätsreactionen. Sie zeigen sich in diesen dem Typhusbacillus ausserordentlich nahestehend, so zwar, dass sie von schwer agglutinabeln Typhusstämmen allein mit den Immunitätsreactionen nicht sicher zu trennen wären. Nur durch ihre culturellen Merkmale, durch Virulenz und Pathogenität unterscheiden sie sich scharf vom Eberth-Gaffky'schen Bacillus.

6. Zur Differenzirung von Bakterienarten sind daher alle bakteriologischen Methoden heranzuziehen: sowohl die allgemeinen biologischen und culturellen Untersuchungen, die Prüfung der Virulenz und Pathogenität, als auch besonders die Immunitätsreactionen.

Mit Hülfe dieser Methoden lässt sich die Specificität der Bakterien der Paratyphusgruppe nachweisen. Namentlich die Immunitätsreactionen haben sich auch hier als streng specifisch erwiesen und können gesetzmässige Beziehungen aufdecken, die nur sehr selten Durchbrechungen erfahren.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)
(Abtheilungs-Vorsteher: Prof. Dr. W. Kolle.)

Untersuchungen über die Beziehungen von Baktericidie in vitro und im Thierversuch an Typhus- u. Paratyphusbacillen mit verschiedenen specifischen Serumproben.

Von

Dr. **H. Töpfer**, und Dr. **J. Jaffé**,
Assistenten am Institut.

Die im Blutserum von Typhuskranken, -Reconvalescenten und künstlich mit Typhusbacillen inficirten Thieren auftretenden specifischen Stoffe, die Agglutinine und Bakteriolysine, sind praktisch wie theoretisch von grosser Bedeutung und haben demgemäss die Anregung zu einer grossen Reihe von Arbeiten gegeben. Sie gestatten uns, die durch die Infection hervorgerufenen Reactionen zu verfolgen, sind mit Erfolg für die Frühdiagnose des Typhus abdominalis (Gruber-Widal) herangezogen worden und können für die Beurtheilung von Typhusschutzimpfungsverfahren verwandt werden. Die Arbeiten vieler Forscher sind darauf gerichtet gewesen, möglichst einfache und dabei zuverlässige Methoden für den Nachweis dieser Stoffe zu finden. Vor allen Dingen kam es darauf an, quantitative Bestimmungen derselben in einwandsfreier Weise vornehmen zu können. Diese Forderung ist für den Nachweis der Agglutinine erfüllt. Die jetzt am meisten angewandte Methodik der makroskopischen Agglutination ist zuerst von Pfeiffer und Kolle[1] festgelegt worden. Lässt man die

[1] Zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen vermittelst Serums der gegen Typhus immunisirten Thiere. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 12. S. 185.



nöthigen Controlen und die hinlänglich bekannten Vorsichtsmaassregeln nicht ausser Acht, so erhält man durch die Agglutinationsprobe im Reagensglase ganz unzweideutige Resultate. Diese makroskopische Probe ist stets der im hängenden Tropfen bei schwacher Vergrösserung vorzuziehen, welche nur dann gelten soll, wenn sie absolut sicher ausfällt. Ganz zu verwerfen ist es, zur Erkennung der Agglutination etwa stärkere Vergrösserungen oder gar die Oel-Immersion anzuwenden; hierbei können zu leicht Irrthümer unterlaufen.

Etwas schwieriger gestalten sich die Verhältnisse beim Nachweis specifischer Bakteriolysine. Hierzu bedarf es nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Kolle[1] des Thierkörpers, in dessen Peritonealhöhle die bakteriolytischen oder baktericiden Processe vor sich gehen. Bietet uns hierfür das Meerschweinchen auch ein geeignetes Object, so haften dem Pfeiffer'schen Versuche gerade beim Nachweis der Typhus-Bakteriolysine eine Reihe von Schwierigkeiten an. Einmal sind Thiere nicht überall zu beschaffen und die Versuche verursachen grössere Kosten. Dann werden die Resultate häufig ungenau durch die offenbar verschiedene individuelle Disposition der Thiere der Typhusinfection gegenüber. Man braucht daher zur genauen Werthbestimmung eines Serums oder, wenn man eine Cultur mit hochwerthigem Serum identificiren will, häufig doppelte Versuchsreihen mit vielen Thieren. Bei der Cholera liegen die Verhältnisse weit einfacher. Sobald man hier eine geeignete Cultur und ein hochwerthiges Serum hat, erhält man glatte Reihen und kann so sichere Schlüsse auf die Wirksamkeit des Serums ziehen. Die bakteriolytischen Processe in der Bauchhöhle der Meerschweinchen verlaufen bei der Cholera weit schneller und gleichmässiger als bei Typhusbakterien und Typhusserum. Innerhalb kurzer Zeit erfolgt bei geeigneter Beschaffenheit des Serums typische Granulabildung. Beim Typhus geht das Phänomen langsamer vor sich. Es sterben in Folge dessen häufiger Thiere an Vergiftung. Aus der Beschaffenheit des nach der Injection entnommenen Exsudates allein kann daher nicht immer mit Sicherheit geschlossen werden, dass das zur Prüfung verwandte Serum in der betreffenden Concentration noch lytisch auf die Typhusbacillen wirkt und dass das Thier am Leben bleibt. Es muss vielmehr bei diesen Versuchen mit bakteriolytischem Typhusserum auch in Rechnung gezogen werden, ob das Thier die Infection übersteht oder nicht. Aber auch das Endresultat des Versuches ist nicht immer eindeutig. Es kommt häufig vor, dass Thiere, die grosse Dosen von Immunserum erhalten haben, eingehen, während andere Thiere derselben Versuchsreihe mit kleineren Dosen am Leben bleiben. Hierbei

[1] *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXI.



wirken Factoren mit, wie sie von Löffler und Abel[1], Pfeiffer und Kolle[2], Leclainche und Morel[3] beobachtet sind, für die Neisser und Wechsberg[4] eine Erklärung in der Complementablenkung gegeben haben. Ausserdem spielen gewisse Kautelen eine grosse Rolle für das Gelingen des Versuches. Unter anderem kommt es sehr viel auf die richtige Auswahl der geeigneten Cultur an. Denn wie Culturen in vitro nach Wassermann[5] eine verschiedene Bindungskraft haben, so werden sie auch im Pfeiffer'schen Versuch durch dasselbe Serum nicht gleichmässig beeinflusst, so dass z. B. bei der Auswerthung eines Typhusimmunserums gegenüber einer schwer beeinflussbaren Typhuscultur grosse Täuschungen über den Werth des betreffenden Serums sich ergeben können. Nähere Untersuchungen hierüber, die auf Veranlassung von Hrn. Prof. Kolle von DDr. Besserer und Jaffé[6] angestellt sind, werden demnächst veröffentlicht werden.

So werthvoll und unentbehrlich für viele theoretische Untersuchungen und praktische Zwecke der Pfeiffer'sche Versuch ist, so kann er aus den angeführten Gründen, die ja zum Theil nur äusserliche sind, nicht überall Verwendung finden. Man hat daher für den Nachweis der baktericiden Stoffe auf Methoden gefahndet, bei denen man die Meerschweinchen nicht braucht. Schon Pfeiffer[7] und Metschnikoff[8] hatten die Beobachtung gemacht, dass sich das Pfeiffer'sche Phänomen auch im Reagensglase mit Zusatz von ganz frischem Serum oder Peritonealexsudat zum Choleraimmunserum hervorrufen liess. Auf Grund dieser Versuche gingen andere Forscher, wie Bordet[9], Trumpp[10], Emmerich[11], Richardson[12], Widal[13], Le Gourd[14], Georgiewsky[15], Förster[16], Trommsdorf[17],

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Bd. XIX S. 51.

[2] *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XX. S. 215.

[3] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1901. Nr. 1.

[4] *Münchener med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 18.

[5] *Festschrift für R. Koch.* 1903. S. 527.

[6] *Deutsche med. Wochensbhrift.* 1905.

[7] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 8. S. 119.

[8] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.

[9] *Ebenda.* 1901.

[10] *Archiv für Hygiene.* 1898.

[11] *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXI.

[12] *Journal of Medical Research.* July 1901.

[13] *Société médical des Hôpitaux.* 14. Juni 1901. — *Société de Biologie.* — *Presse medical.* 1896.

[14] *Thèse de Paris.* 1902.

[15] *Ann. de l'Acad. méd. milit. de St. Pétersb.* 1902.

[16] *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV.

[17] *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XXXII. p. 435.



daran, auch im Serum von Typhuskranken und -Reconvalescenten mit den verschiedensten Methoden die Bakteriolysine in vitro nachzuweisen. Aber es fehlte immer noch die richtige Methodik. Die Resultate waren zum Theil widersprechende, die Anstellung der Versuche war sehr complicirt und eine quantitative Auswerthung der baktericiden Stoffe daher nicht möglich.

Ein brauchbares Verfahren, das besonders die letzte Forderung erfüllt, haben erst Neisser und Wechsberg[1] gegeben. Sie setzten zu abgestuften Mengen von inactivirtem Serum die gleiche Dosis Cultur und frisches Complementserum und stellten dann die Zahl der Bakterien, die der Einwirkung der Serumgemische widerstanden hatten, entweder durch das Reductionsvermögen derselben auf Farbstoffe[2] oder durch directe Auszählung der Keime fest. Diese Zählmethode[3] wandten auch Stern und Korte[4] an zum Nachweis baktericider Stoffe im Serum von Typhuskranken und -Reconvalescenten. Die Untersuchungen dieser beiden Forscher setzten unter Anwendung der gleichen Methodik Korte und Steinberg[5] und ebenso Hahn[6] fort, der auch im Serum Nichttyphöser specifisch baktericide Stoffe nachweisen konnte. Laubenheimer[7], der sich des gleichen Verfahrens bediente, stellte ebenfalls Untersuchungen an über die Einwirkung der von Typhuskranken und Reconvalescenten gewonnenen Sera auf Typhus- und Paratyphusbacillen. Auch zur Beurtheilung von Schutzimpfungsverfahren wurden die baktericiden Reagensglasversuche verwendet. Wright[8] und Shiga[9] gebrauchten dieselben zur Bestimmung des Grades der in Folge der Impfung eingetretenen specifischen Blutveränderung.

Besonders durch Heranziehung der Reagensglasversuche zu derartigen wichtigen Untersuchungen haben die in vitro sich abspielenden Vorgänge eine gewisse praktische Bedeutung erlangt. Durch die Veröffentlichungen von Stern und Korte gewinnt man den Eindruck, als könnte durch den Reagensglasversuch der Pfeiffer'sche Versuch ersetzt werden. Die Arbeiten von Stern und Korte, Hahn u. s. w. scheinen zu beweisen, dass die in vitro wirkenden bakteriolytischen Stoffe bei der Versuchs-

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 18.
[2] *Ebenda.* 1900. Nr. 37.
[3] E. Neisser, *Ebenda.* 1900. Nr. 37.
[4] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 9.
[5] *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1905. Bd. LXXXII.
[6] *Ebenda.*
[7] *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. LVI.
[8] Wright, *The Lancet.* 1901. — *Journal of Hygiene.* 1901. Vol. IV. Nr. 2.
[9] Shiga, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Hft. 5.



anordnung der Autoren den Agglutininen bezüglich diagnostischer Verwerthbarkeit gleich oder gar überlegen wären. Bisher liegen aber noch keine vergleichenden Arbeiten über diese Methoden vor. Unter diesen Umständen scheint es wohl berechtigt, noch weitere Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen. Es sollen denn in der vorliegenden Arbeit, die auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Kolle ausgeführt wurde, weitere Nachweise über die Wirkung der Typhusbakteriolysine in vitro verglichen mit der Wirkung im Pfeiffer'schen Versuch geliefert werden. Zugleich sollen auch die Beziehungen der Bakteriolysine zu den Agglutininen festgestellt werden.

Zu diesen Untersuchungen wurden nicht nur die Sera von Typhuskranken und -Reconvalescenten, sondern auch die von normalen Menschen und Kranken, die nicht an Typhus litten, ferner die von Schutzgeimpften und immunisirten Thieren mit herangezogen. Auch die Einwirkungen specifischer Sera auf Paratyphusbacillen sollen berücksichtigt werden. Es liess sich so ein Vergleichsmaterial zusammenstellen, wie es in diesem Umfange wohl selten zur Verfügung steht.

Das Serum wurde in der üblichen Weise gewonnen. Die Blutentnahme wurde bei Gesunden und Kranken mittels Spritze aus der Vena mediana, bei Thieren aus der Vena jugularis oder auricularis vorgenommen. Es liessen sich so meist grössere Mengen Serum gewinnen, das sich nach Ablösung des Blutkuchens vom Rande des Reagensglases her abschied. Zur Verwendung des Serums im Thierversuch wurde es mit Bouillon verdünnt und in je 1 ^{ccm} des Serumbouillongemisches 1 Oese (ca. 2 ^{mg}) 24 stündiger Typhusagarcultur verrieben. Zu den Thier- und Reagensglasversuchen wurden eine Anzahl von Stämmen verwendet, die sich unter einander durch die verschiedene Herkunft und durch den Virulenzgrad unterschieden und durch dasselbe Serum verschieden hoch agglutinirt wurden. Auch durch Absorptionsversuche nach Wassermann, die von den Herren Stabsärzten DDr. Kutscher und Hetsch vorgenommen wurden, liessen sich bei den einzelnen Stämmen Unterschiede im Bau des Receptorenapparates feststellen. Ein sehr hohes Bindungsvermögen besitzt der in den Tabellen mit „151“ bezeichnete Stamm, den Herr Stabsarzt Kutscher aus der Milz isolirt hat und der eine Virulenz von $^1/_5$ Oese besitzt. Dieser Stamm ist auch zur Schutzimpfung der auf Tabelle III aufgeführten[1] von Herrn Prof. Kolle verwandt worden. Eine etwas geringere, aber immer noch ziemlich bedeutende Bindungskraft besitzt Stamm „E“, wie

[1] Vgl. Ueber Typhus-Schutzimpfungen von Gaffky, Kolle, Hetsch und Kutscher. *Klin. Jahrbuch.* Bd. XIV. — Kolle, Ueber den Stand der Typhus-Schutzimpfungsfrage. *Deutsche med Wochenschrift.* 1905. Nr. 12.



von **Wassermann**[1] festgestellt ist. Dieser Stamm ist gut agglutinabel und hat eine Virulenz von $^1/_4$ Oese. Ausserdem fanden noch folgende Stämme Verwendung:

Stamm „W“, Virulenz = $^1/_{12}$ Oese, alter Laboratoriumsstamm,
„ „Zeitler“, aus dem Blut eines Typhösen in Südwestafrika gezüchtet,
„ „Tamble“, aus dem Stuhl eines sog. „Dauerausscheiders“.
„ 29
„ 2
„ 69
„ Dreweck
} aus dem Stuhl von Typhuskranken.

Es wurden absichtlich eine grössere Anzahl von Stämmen von verschiedener Herkunft und Eigenschaft zu den vorliegenden Untersuchungen herangezogen, um so ein möglichst vielseitiges Urtheil gewinnen zu können.

Die Versuche mit den Paratyphusseris wurden mit dem Paratyphusstamm 140 Typus B angesetzt.

Bei der Technik der Reagensglasversuche wurden im Wesentlichen die von **Neisser** und **Wechsberg** und **Stern** und **Korte** angegebenen Vorschriften befolgt. Als Culturaussaat wurde 24stündige Bouilloncultur genommen. Mit schwach alkalischer Bouillon wurde eine Verdünnung von 1:5000 hergestellt, wovon 0·5 ccm in jedes Röhrchen gefüllt wurde. Die Verdünnungen des Serums, das zwecks Inactivirung eine halbe Stunde bei 55 bis 60° gehalten war, wurden mit steriler, 0·85 procentiger Kochsalzlösung hergestellt. Auf die Reinheit, Keimfreiheit und sorgfältige Herstellung der Kochsalzlösung muss stets Bedacht genommen werden. Wir machten nämlich anfangs die Erfahrung, dass Kochsalzlösung, aus chemisch nicht ganz reinem NaCl hergestellt, an sich schon auf Typhusbakterien bakteriolytisch wirkte. Als Complementzusatz wurde 0·5 ccm ganz frischen, mittels NaCl-Lösung auf 1:10 verdünnten Kaninchenserums genommen. Durch zahlreiche Controlversuche hatten wir festgestellt, dass diese Menge frischen Serums geeignet war, das specifische Serum zu reactiviren, ohne an sich abtödtend, in geringem Maasse allerdings mitunter hemmend, auf die Typhusbakterien zu wirken. Folgende Controlen wurden bei jedem Versuch angesetzt: 1. Platte I zeigte die überhaupt zur Aussaat gelangende Keimzahl an, 2. Platte II wurde aus einem denselben Inhalt wie I, d. h. 0·5 ccm Culturmenge und 1·5 ccm Kochsalzlösung, enthaltenden Röhrchen, jedoch erst nach 3stündigem Verweilen im 37°-Brutschrank angelegt, 3. Platte III sollte den eventuellen

[1] Koch's *Festschrift*.

Einfluss des Complementzusatzes demonstriren, Röhrchen III enthielt demnach 0·5 ccm Culturmenge, 0·5 ccm Complementzusatz und 1 ccm Kochsalzlösung. In der Regel zeigten sich jedoch keine, mitunter nur geringe Unterschiede zwischen Platte II und III. Ausserdem wurden in Controle IV und V Proben auf die Sterilität des Complement- und des specifischen Serums gemacht. In die Röhrchen der eigentlichen Versuchsreihe wurde zunächst 1 ccm der Serumverdünnung 1:10, 20, 50, 100 u. s. w., dann die Culturmenge und das Complementserum gefüllt. Sämmtliche Röhrchen ausser I wurden dann auf 3 Stunden in den Brütschrank bei 37° C. gestellt. Darnach wurden aus jedem 0·25 ccm oder 5 Tropfen, abgemessen mit stets gleichen 1 ccm Pipetten, zu Agarplatten verarbeitet. Wir verwandten hierzu nicht den ganzen Inhalt der Röhrchen, da sonst, besonders in den höheren Verdünnungen die Zahl der Colonieen zu gross geworden wäre, um einer Zählung bezw. Schätzung zugängig zu sein. Bei der Aussaat auf Agarplatten ist noch folgender Umstand zu beachten. Es kam bei Vorversuchen öfter vor, dass entweder am Boden der Platte oder auf der Agaroberfläche ein Rasen von nicht mehr zu trennenden Colonieen sich befand, der eine Auszählung der zur Aussaat gelangten Keime unmöglich machte. In diesen Fällen hatten sich eine Anzahl Keime in dem auf dem Boden der Platte oder auf der Agaroberfläche befindlichen Condenswasser entwickelt. Um dies zu verhindern, wurde zunächst die Petrischale mit einer dünnen Agarschicht bedeckt. Auf diese erstarrte Schicht wurde die Röhrchenaussaat gebracht, mit flüssigem Agar gut vermischt und nach dem Festwerden wiederum mit einer dünnen Agarschicht überschichtet. So konnten Platten mit isolirten Colonieen erhalten werden, ohne dass Oberflächenwachsthum störend dazu getreten wäre. Die Zahl derselben wurde makroskopisch oder unter dem Mikroskop durch Auszählen einzelner Gesichtsfelder festgestellt. Bei unseren vergleichenden Untersuchungen legten wir Werth darauf, die annähernd genaue Colonieenzahl zu bestimmen und begnügten uns nicht nur mit den von den anderen Autoren gemachten schätzungsweisen Angaben.

Die Ergebnisse der von uns ausgeführten Versuche sind auf den Tabellen I bis IV zusammengestellt. Ein Theil der Pfeiffer'schen Versuche sind von den Herren Stabsärzten DDr. Hetsch und Kutscher ausgeführt worden, die uns ihre Resultate in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellten.

Es sind im Ganzen 95 Sera untersucht worden, von denen 82 auf Baktericidie im Reagensglas- und Thierversuche, sowie Agglutination geprüft wurden. Von den übrigen 13 wurde bei 7 ihr Verhalten im Reagensglasversuch, bei 6 dieses und die Agglutination festgestellt. Bezüglich der Herkunft vertheilen sich die Sera folgendermaassen:



16 Serumproben von Typhuskranken,
19 „ „ „ -Reconvalescenten,
21 „ „ „ -Schutzgeimpften,
9 „ „ immunisirten Thieren,
7 „ „ nicht an Typhus erkrankten Menschen,
12 „ „ gesunden Menschen (vgl. Tabelle III vor der Injection),
7 „ „ Paratyphuskranken, -Reconvalescenten und immunisirten Thieren,
4 „ „ Menschen, die vor 2 bis 3 Monaten Typhus überstanden und alsdann mit Paratyphus (1 Oese abgetödtet) injicirt waren.

Die Tabellen sind so eingetheilt, dass in der ersten Spalte kurze klinische Angaben gemacht sind. Dann folgen die Ergebnisse der Pfeiffer'schen Versuche, und zwar bedeuten die Felder mit [0], dass die mit der betreffenden Serummenge behandelten Thiere am Leben geblieben sind und dass deren Exsudat, 1 Stunde nach der Injection entnommen, ein deutliches Pfeiffer'sches Phänomen ergab. Wenn nur dieses beobachtet wurde, das Thier aber einging, so ist das betreffende Feld durch [±] gekennzeichnet. Die Thierversuche und auch die im Reagensglase wurden vielfach mit zwei verschiedenen Typhusstämmen angesetzt, deren Resultate dann nebeneinander gestellt sind. In der Spalte für die Reagensglasversuche sind nur die Serumverdünnungen 1:10, 1:100 u. s. w. vorgesehen. Wir haben natürlich in den meisten Fällen vollständige Reihen mit den Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:50 u. s. w. bis 1:1000000 angesetzt. Der Uebersicht wegen sollen hier nur die Verdünnungen 1:10, 1:100, 1:1000 u. s. w. angegeben werden. In die einzelnen Felder ist die Zahl der nach den angeführten Methoden festgestellten Colonieen eingeschrieben worden. Wenn die Platten eine nur geringe, aber noch deutlich wahrnehmbare Keimzahlverminderung erkennen liessen, so ist dies in den Tabellen durch Umrahmung der Felder angedeutet worden. Unter III. ist die Zahl der Colonieen der Controleplatte III angegeben. Die Ergebnisse der Agglutination wurden makroskopisch nach 1stündigem Aufenthalt der Röhrchen im Brütschrank festgestellt.

Wenn wir zunächst die Resultate der baktericiden Reagensglasversuche in's Auge fassen, so lässt sich hierüber Folgendes sagen. Fast sämmtliche Sera, sei es von Menschen, sei es von Thieren stammend, welche unter der Einwirkung von Typhusbacillen stehen oder gestanden haben, entfalten auf Typhusbacillen in vitro abtödtende Eigenschaften. Am stärksten zeigen sich diese bei Typhuskranken, werden etwas schwächer bei Recon-



valescenten und Immunisirten und verschwinden schliesslich ebenso wie die Agglutinine längere Zeit nach dem Ueberstehen der Krankheit wieder fast vollständig (vgl. die vier letzten Sera von Tabelle II). Diese baktericiden Stoffe üben auf andere Bakterien, Bact. coli, Paratyphus A und B, Enteritis u. s. w., wie durch mehrere Controlversuche festgestellt ist, keinen Einfluss aus. Es handelt sich also um durchaus specifische Stoffe, und es liegt auf Grund unserer Befunde nahe, die in vitro wirkenden Stoffe mit den im Thierkörper wirkenden Bakteriolysinen zu identificiren.

Bei drei von uns untersuchten Sera von Typhuskranken fiel die baktericide Reaction negativ aus. In allen drei Fällen handelte es sich um klinisch sichere Typhen, von denen einer tödtlich auslief. Die beiden anderen wurden, vielleicht zu früh, am 8. und 12. Tag der Erkrankung untersucht. Im Gegensatz hierzu zeigten nach den Untersuchungen von Korte und Steinberg die Sera von tödtlich verlaufenden Typhusfällen oft noch in hohen Verdünnungen Einwirkungen, und ferner konnten diese Autoren nachweisen, dass sich in einzelnen Fällen das Serum von Kranken in der ersten Woche schon wirksam erwies. Irgend welche Schlüsse auf Krankheitsverlauf und Baktericidie sollen aus diesen negativen Ergebnissen nicht gezogen werden. Ueberblicken wir die mitgetheilten Gesammtbefunde, soweit sie sich auf Typhussera beziehen, so stimmen sie im Allgemeinen mit denen von Korte und Steinberg, Stern und Korte, sowie Laubenheimer überein.

Wenn auch Vieles dafür spricht, dass die im Reagensglas und Thierkörper wirkenden Stoffe identisch sind, so sind doch höchstwahrscheinlich die sich dabei abspielenden Processe verschiedener Natur. Gesetzmässige Beziehungen zwischen Agglutination und baktericider Reaction konnten nicht gefunden werden. Denn einmal tritt letzte bei weit höheren Verdünnungen als erste ein und ferner besitzt ein im Reagensglas stark baktericid wirkendes Serum häufig einen nur niederen Agglutinationstiter; auch ergeben sich oft umgekehrte Verhältnisse.

Die Beobachtung der Complementablenkung wurde von uns wohl bei allen Versuchen gemacht. Die stärkste Beeinflussung, d. h. die wenigsten Colonieen, zeigte die Platte mit der Serumverdünnung 1:100.

Für diagnostische Zwecke könnte immerhin ein positiver Ausfall des Reagensglasversuchs bei negativem Ergebnisse des Agglutinationsverfahrens Bedeutung erlangen. Zur Verdrängung der Agglutinationsprobe als einer leicht auszuführenden Maassnahme in Kliniken, Krankenhäusern oder gar im Laboratorium des praktischen Arztes wird der Reagensglasversuch aber kaum führen können. Denn die Anstellung der Versuche erfordert, wie oben auseinandergesetzt wurde, erheblich mehr Apparate und Uebung, sowie einen weit grösseren Aufwand von Zeit, sowohl beim Ansetzen des



Versuches, als auch bezüglich der Beurtheilung der Resultate, als das Agglutinationsverfahren, auch gestaltet sie sich kaum einfacher als der Thierversuch.

So bedeutende baktericide Einwirkungen, wie die oben genannten Autoren gefunden haben, liessen sich bei unseren Versuchen nicht feststellen. Trotzdem von uns nicht der ganze Reagensglasinhalt zu Platten verarbeitet wurde, konnten doch niemals bei den stärkeren Serumconcentrationen vollkommen sterile Platten gefunden werden. Liessen wir die Röhrchen 20 Stunden im Brütschrank stehen, so blieb meist das die Serumverdünnung 1:100 enthaltende klar und erwies sich auch als steril. Die schon nach 3 Stunden mit 0·25 ccm aus diesem Röhrchen hergestellte Platte wies aber immerhin noch einige hundert Colonieen auf. Es genügen demnach nicht immer, wie Laubenheimer angiebt, zum vollständigen Ablauf der baktericiden Reaction kurze Zeiträume, etwa $^1/_2$ Stunde. Häufig verläuft der Abtödtungsprocess auch langsamer. Stern und Korte haben selbst noch bei ganz geringen Serummengen deutliche Beeinflussung auf den entsprechenden Platten nachweisen können. Eine solche konnten wir in vereinzelten Fällen nur bis zu einer Serumverdünnung 1:100000 erkennen. Diese anscheinend verschiedenen Resultate sind entweder durch technische Unterschiede oder, was wahrscheinlicher ist, dadurch bedingt, dass der von jenen Verfassern gebrauchte Typhusstamm viel intensiver durch Serum in vitro beeinflusst wird.

Auch von den Befunden Hahn's weichen die unserigen ab. Aus seiner Zusammenstellung ergiebt sich, dass die Sera von Gesunden, die niemals Typhus überstanden haben sollen, in 15 Procent der Fälle und die von solchen, die an verschiedenen Krankheiten litten, in 26 Procent einen baktericiden Titer über 100 beim Versuch in vitro gezeigt haben. Unsere Untersuchungen erstrecken sich allerdings nur auf sieben nicht typhöse Krankensera und auf zwölf von gesunden Menschen. In keinem Falle gelang es aber, eine baktericide Einwirkung zu erhalten, die nur annähernd an die der specifischen Sera erinnerte. Wie die Tabellen zeigen, liess sich höchstens bei der Verdünnung 1:10 eine geringe Verminderung der Colonieenzahl erkennen. Die Sera von nicht typhösen Kranken (Tabelle I unten) wurden in ihrer Einwirkung auf Typhusbacillen und zugleich auch auf Bacterium coli, das von denselben Patienten stammte, geprüft. In beiden Fällen erhielten wir die gleichen Resultate: auf den Serumplatten war dieselbe Anzahl Keime ausgewachsen wie auf den Controlen. Die starken baktericiden Einwirkungen, die Hahn zum Theil erhalten hat, sind vielleicht dadurch zu erklären, dass die Betreffenden, von denen die Sera stammten, früher doch einmal Typhus durchgemacht haben. Man wird auf diese Vermuthung z. B. durch die

Ergebnisse der Untersuchung mit Hahn's eigenem Serum gebracht. Sein Serum besitzt nämlich einen verhältnissmässig sehr hohen Titer und er selbst giebt an, dass er vor mehreren Jahren an Darmkatarrh von 6 monatlicher Dauer gelitten habe. Der Verdacht, dass es sich da um Typhus gehandelt habe, ist jedenfalls nicht auszuschliessen. Mit unseren Ergebnissen stimmen auch die von Laubenheimer mit normalem Serum erhaltenen überein. Die Sera von vier nicht typhösen Kranken und zwei gesunden Menschen erwiesen sich Typhus- und Paratyphusbacillen gegenüber als nicht baktericid.

Aus den vorliegenden Tabellen ist zu ersehen, dass die verschiedenen specifischen Sera meist eine sehr deutliche abtödtende Einwirkung auf Typusbacillen im Reagensglase besitzen. Unter dem Mikroskop betrachtet, verfallen die Bakterien, ähnlich wie im Peritoneum des Meerschweinchens, unter Granulabildung der allmählichen Auflösung.

Im Gegensatz zum Typhusserum besitzt das Paratyphusserum, obwohl es stark baktericid im Thierkörper wirkt, gar keine Wirkungen auf Paratyphusbacillen in vitro. Wir haben verschiedene Paratyphusserumproben untersucht und diese Versuche öfters mit dem gleichen negativen Resultate wiederholt. Während also das von Thieren stammende, hochwerthige bakteriolytische Paratyphusserum in vitro baktericid unwirksam ist, scheint nach den Befunden von Laubenheimer das Serum von paratyphuskranken Menschen in vitro baktericide Effecte zu entfalten. In drei Fällen von Erkrankung an Paratyphus hat Laubenheimer die baktericide Reaction Paratyphusbacillen vom Typus B gegenüber nachgewiesen. Diese war sogar so stark, dass sie in einem Falle noch bei einer Serumverdünnung von 1:51 200 eingetreten sein und sämmtliche Keime zur Abtödtung gebracht haben soll. Desto auffallender sind diese Resultate, als L. stets den ganzen Inhalt des Reagensröhrchens zu Platten verarbeitete, während wir, wie schon erwähnt, selbst bei Aussäung nur des vierten Theiles niemals eine sterile Platte erhielten.

Auch die auf Tabelle IV verzeichneten, mit vier Serumproben — herrührend von mit Paratyphus nachträglich geimpften Typhusreconvalescenten — angestellten Reagensglasversuche zeigen ein negatives Resultat im Gegensatz zu den Typhusschutzgeimpften.

Wie die Pfeiffer'schen Versuche, die mit den genannten sieben Paratyphusserumproben angestellt sind, zeigen, haben diese im Thierversuch einen ziemlich hohen baktericiden Titer. Wenn die Sera nun in ihrer Wirkung im Reagensglasversuch vollkommen ausfallen, so muss man nach der Ursache dieses Phänomens forschen. Man wird dabei zu der Annahme gedrängt, dass die beiden im Reagensglas und Thierkörper sich abspielenden Processe nicht identisch sind. Man könnte ferner ver-



muthen, dass die übliche Complementmenge zur Reactivirung der specifischen Paratyphussera nicht genüge. Versuche mit verschiedenen Mengen von frischem Kaninchenserum als Complementzusatz fielen ebenfalls negativ aus. Eine andere zur Erklärung dienende Annahme könnte die sein, dass das Kaninchencomplement nicht zu dem specifischen Amboceptor passt. Jedoch die Complemente anderer Thierarten, Pferd, Esel, Rind, Meerschweinchen, liessen die Versuche in gleich negativen Sinne ausfallen. Dieselben Resultate wurden erzielt, wenn zu dem specifischen Serum Peritonealexsudat, das durch Aleuronatinjectionen beim Meerschweinchen gewonnen wurde, hinzugesetzt wurde. Nach unseren Untersuchungen versagt der Reagensglasversuch beim Paratyphus vollkommen, während der Thierversuch eindeutige Resultate liefert.

Dass die Reagensglasversuche häufig zu keinem Resultate führen, während das Serum sich im Thierkörper als wirksam erweist, wird auch schon von Neisser[1] erwähnt. Da dies auch beim Paratyphus der Fall zu sein scheint, so ergiebt sich hieraus ein weiterer Unterschied zwischen diesem und dem Typhus in biologischer Hinsicht.

Endlich ist die Annahme nicht von der Hand zu weisen, dass die beiden im Thierkörper einerseits, im Reagensglas andererseits sich abspielenden Processe, wo doch Serum, Cultur, Temperatur u. s. w. völlig gleich sind, nicht mit einander identisch sind. Wenn auch beide Phänomene, wie sich bei Benutzung von Typhusserum und Typhusbakterien zeigt, mit einander im Allgemeinen übereinstimmen können, so beweist das noch nicht die Identität beider Processe. Es darf aus diesen Unterschieden auch nicht etwa der Schluss gezogen werden, dass es verschiedenartige Körper sind, welche die Bakteriolyse in vitro einerseits und im Thierkörper andererseits bedingen.

Bei diesen letzten Ausführungen haben wir die baktericiden Reagensglasversuche denjenigen, die am Thier mit demselben Serum gemacht sind, gegenüberstellen müssen und sind so zu dem Hauptbeweis dieser Arbeit gekommen, nämlich zu vergleichenden Beobachtungen über den Ausfall der Agglutination und Bakterieidieversuchen in vitro und Thierkörper. Nach Abschluss der vorliegenden Untersuchungen sahen wir, dass Korte und Steinberg hierauf Werth zu legen schienen, aber wegen der grossen Thieropfer von der Ausführung solcher Versuche noch Abstand genommen haben. Ueber die Wirkungen von Typhusreconvalescenten- und Krankenserum im Thierversuch liegen schon eine Reihe von Arbeiten vor. Stern[2], Chantemesse und Widal[3] konnten zeigen,

[1] Ehrlich's *Gesammelte Arbeiten.* Berlin 1904. S. 494.

[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. Nr. 37. — *Diese Zeitschr.* 1894. Bd. XVI.

[3] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892.



dass das Serum von Typhusreconvalescenten im Thierkörper stärkere Wirkungen entfaltet, als das von Nicht-Typhösen. Specifische Unterschiede in der Wirkungsweise dieser beiden Sera wiesen Pfeiffer und Kolle[1] nach und fanden, dass das von Reconvalescenten stammende in weit kleineren Dosen noch lytisch wirkte als das von Nicht-Typhösen. Auch bei Schutzgeimpften liessen sich nach den Untersuchungen von Kolle[2], Pfeiffer und **Marx**[3] im Serum specifisch wirksame Stoffe nachweisen.

Die Ergebnisse der von uns angesetzten Pfeiffer'schen Versuche sind folgende:

Von den zwölf Serumproben normaler Menschen (s. Tabelle III vor der Impfung) zeigen sechs selbst in der Verdünnung 1:10 keine schützende Wirkung. Zwei lassen bei der Exsudatentnahme ein positives Pfeiffer'sches Phänomen erkennen, während die Thiere eingehen, von zweien schützen 0·1 und ebenfalls von zweien 0·05 Serumverdünnung. Ganz ähnlich ist der Ausfall der Versuche mit dem Krankenserum, weit höhere Ausschläge geben die Sera der Typhusreconvalescenten. Die schützende Wirkung ist hier mitunter bis zu einer Serumverdünnung von 1:1000 nachzuweisen. Je längere Zeit nach dem Ueberstehen der Krankheit verstrichen ist, desto geringer sind die specifischen Blutveränderungen. Dies ist der Fall bei den vier auf Tabelle II unten aufgeführten Reconvalescenten, deren Serum Monate nach dem Ueberstehen der Krankheit untersucht wurde.

Für die Untersuchungen zum Nachweis der Immunstoffe im Blute Typhusschutzgeimpfter standen die Serumproben von Personen zur Verfügung, welche nach verschiedenen Verfahren gegen Typhus activ immunisirt waren. Auf Tabelle III ist ein Theil der Sera der von Prof. Kolle nach den verschiedenen Methoden des Immunisirungsverfahrens gegen Typhus Behandelten zusammengestellt.

Einen wesentlichen Ausschlag im Thierversuch geben nur die Sera der ersten vier und letzten drei, die Injectionen von 1 und 2 Oesen bezw. Bouillonculturen nach der Wright'schen Vorschrift erhalten haben. Der Titer dieser Sera entspricht vollkommen dem der Reconvalescenten. In drei Fällen schützte sogar noch die Verdünnung 1:1000. Weit geringere Titerveränderungen wurden erzielt bei den mit kleineren Dosen ($^1/_{30}$, $^1/_{15}$, $^1/_5$) Geimpften. Hier gehen die Werthe nicht weit über die normaler Sera hinaus. Weit höhere Titersteigerungen lassen sich natürlich bei Thieren erreichen, die mit allmählich steigenden Dosen längere Zeit hindurch immunisirt wurden. Auf Tabelle IV sind die Ergebnisse der

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXI.

[2] A. a. O.

[3] A. a. O.



Pfeiffer'chen Versuche, die mit dem Serum einer Anzahl Kaninchen und Esel angestellt sind, angeführt. In mehreren Fällen schützten diese Sera in ganz kleinen Mengen von $^1/_5$ mg gegen die 5- bis 10 fach tödtliche Dosis. Auf die Herstellung dieser Sera soll hier nicht weiter eingegangen werden. Es kam ja bei diesen Untersuchungen weniger darauf an, möglichst stark baktericid wirksame Sera zu erhalten, als vielmehr darauf, die baktericiden Eigenschaften derselben im Reagensglas- und Thierversuch zu vergleichen.

Wenn wir die sämmtlichen nach dieser Richtung angestellten Untersuchungen, wie auf den Tabellen I bis IV geschehen ist, gegenüberstellen, so lassen sie erkennen, dass eine Uebereinstimmung in den Resultaten nicht besteht. Die Krankensera auf Tabelle I sind im Reagensglase von allen die wirksamsten. Im Thierversuch verhalten sie sich wie die normaler Menschen und geben gar keinen Ausschlag. Die der Reconvalescenten zeigen im Pfeiffer'schen Versuch einen theilweise hohen Titer, während sie im Reagensglase schwächere Wirkungen entfalten als die der Kranken. Aehnlich verhält es sich bei den Schutzgeimpften. Wir sehen, dass der Ausfall der Pfeiffer'schen Versuche an Wirkung hier ungefähr dem entsprach, was mit dem Serum der Reconvalescenten erzielt wurde. Die baktericiden Reactionen im Reagensglase auf Tabelle III sind noch schwächer als die auf Tabelle II. Also selbst da, wo die Thierversuche annähernd gleich ausfallen, geben die Reagensglasversuche nicht entsprechende Resultate. Ebenso wenig conform ist der Ausfall der mit den Thierseris angestellten Versuche. Während sie im Pfeiffer'schen Versuche sehr wirksam sind, haben sie im Reagensglase kaum eine stärkere Wirkung als die Reconvalescentensera.

Es hat sich also herausgestellt, dass bei einem Vergleich der beiden Prüfungsmethoden für die baktericiden Stoffe eine Uebereinstimmung in den Resultaten sich nicht ergiebt. Die Ergebnisse dieser beiden Methoden zeigen unter einander dieselben Verschiedenheiten wie diese wieder im Vergleich zum Ausfall der Agglutination. Der Reagensglasversuch giebt sehr hohe Ausschläge, wenn die Krankheit noch besteht und eine Immunität noch nicht eingetreten ist. Nach dem Ueberstehen der Krankheit giebt er zwar auch noch einen deutlichen positiven Ausfall, aber die Baktericidie ist nicht mehr eine so starke wie während der Krankheit. In der Reconvalescenz dagegen ergeben die Sera höhere Titer im Thierversuch. Für die retrospective Diagnose ist deshalb neben der Agglutination der Pfeiffer'sche Versuch allein brauchbar. Auch für die Beurtheilung von Schutzimpfungsverfahren ist das Thierexperiment dem Reagensglasversuch vorzuziehen.



Schlussfolgerungen.

1. Zwischen Agglutination und baktericider Reaction im Thierkörper und Reagensglase lässt sich kein Parallelismus, weder mit Serum von immunisirten Thieren, noch mit demjenigen von Typhuskranken- und Reconvalescenten nachweisen.

2. Im Pfeiffer'schen Versuch geben die Sera von Typhusreconvalescenten, Menschen, die mit grossen Dosen Agar-Impfstoff geimpft sind und von hochimmunisirten Thieren den grössten Ausschlag, während die Sera Kranker nur geringe, oft gar keine Bakteriolyse im Thierkörper hervorrufen.

3. Im Reagensglasversuche zeigen die Typhukrankensera die stärkste baktericide Einwirkung auf Typhusbacillen, während die der Serumproben von Reconvalescenten, Schutzgeimpften und hochimmunisirten Thieren, im Verhältnisse dazu absolut genommen, geringer ist.

4. Im Gegensatz zu diesen noch in geringsten Verdünnungen nachweisbaren, nur auf Typhusbakterien wirksamen, deshalb specifischen Stoffen lassen sich im Serum normaler Menschen und von Kranken, die nicht an Typhus leiden, weder durch Thierversuch, noch im Reagensglase specifische, auf Typhusbacillen baktericid wirkende Stoffe nachweisen.

5. Serum von Paratyphusreconvalescenten und Thieren, die mit Paratyphus immunisirt waren, ergab im Thierversuch eine sehr deutliche bakteriolytische Reaction, übte im Gegensatz dazu im Reagensglase auf Paratyphusbacillen gar keine Wirkung aus.

6. Zur Sicherstellung der Typhusdiagnose ist, abgesehen von dem Bacillennachweis, die Agglutination dem baktericiden Reagensglasversuch aus technischen Gründen vorzuziehen. Denn die Versuche, im Plattenverfahren die Baktericidie in vitro nachzuweisen, erfordern grössere technische Uebung. Sie sind ungemein complicirter und zeitraubender, als die Agglutinationsprobe und werden deshalb grössere Verwendung selbst in Kliniken kaum finden.

7. Zum Nachweis der überstandenen Typhuserkrankung oder zur Beurtheilung von Schutzimpfungsverfahren, zur Werthmessung des Typhusimmunserums von Thieren ist der Pfeiffer'sche Versuch geeigneter, als der im Reagensglase. Denn der Thierversuch misslingt dem Geübten weit seltener, als der Reagensglasversuch und ermöglicht die genaue Auswerthung specifischer Bakteriolysine bis zu starken Verdünnungen noch da, wo in vitro nur geringe Wirkung in starken Concentrationen zu Tage tritt.



Tabell

		Pfeiffer'scher Versuch												
		gegenüber Stamm 29							gegenüber Stamm					
		0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002
Krause	$3^1/_2$ Woche klin. sich. Typh. abd.	±	†											
Berendt	$2^1/_2$ „ „ „	0	±	†										
Geissler	4. „ „ „	0	†											
Härtel	2. „ „ „	0	0	†										
N. N.	3. „ „ „	0	†											
Frau Luger	3. „ „ „	†												
Eisermann	4 „ „ „	†												
Randzus	$3^1/_2$ „ „ „	0	†											
Gänseler	4. „ leichter Fall	0	0	0										
Glasenapp	1. „ mittelschwerer Fall	0												
Rojahn	$2^1/_2$ „ „ „	±												
									Stamm T.-E.					
Lüdke	3. „ mittelschwerer Fall	0	0	†					0	0	0	†		
Sobottka	$4^1/_2$ „ schwerer Fall	0	0	†					0	0	0	†		
Rech	3. „ klinisch sich. Exitus	†												
Schneider	12. Tag klinisch sicher	†												
Stretlow	8. „ „ „	†												
	Pneumonie	†												
	Pneumonie und Pleuritis .	†												
	Colitis, Peritonitis . . .	†												
	Salpingitis	†												
	Pneumonie	†												
	Fiebernde Phthise . . .	†												
	Angina mit hohem Fieber	†												

[...]huskranke.

	Reagensglas-Versuch												Agglutination							
	gegenüber Stamm T.-E.					gegenüber Stamm							mit Stamm T.-E.							
	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III.	0·1	0·01	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III.	0·01	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002		
70	125	7250			∞								+	+	+	+	—			
00	105	1000			∞								+	+	+	+	+	—		
0	400	800	1000		20000								+	+	—					
0	610	5600			800000								+	+	+	—				
0	420	800			2000								+	+	+	+	—			
00	6000	4000	12000	20000	50000								+	+	+	+	+	—		
4	400	3000	8000	30000	70000								+	+	+	+	+	+	—	
0	3800	24800	34000		70000								+	+	+	+	+	—		
00	950	1200			80000								+	+	+	+	+	+	—	
00	14000	23000	30000		60000								+	+	+	+	—			
0	1800	8000	14000		40000															
						Stamm 151							Stamm 151							
	5000				30000	50	300	3600	17000			60000	+	+	+	+	—		1:600	
	400	2000	15000		30000	36	300	2000	6000	30000		60000	+	+	+	+	+	+	+	—
	∞	∞	∞		∞								—	—	—	—				
	∞	∞	∞		∞								+	+	+	+	+	—		
	∞	∞	∞		∞								+	—						
	Nicht typhöse Kranke.																			
													—							
													—							
	keine Einwirkung weder auf T.-E. noch auf Bacterium Coli.												—							
													—							
													—							
													—							
													—							



Tabelle

	Pfeiffer'scher Versuch												
	gegenüber Stamm 151							gegenüber Stamm					
	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002
Gr. vor 1—2 Monaten m. Typh. abd.	0	0	±	0	†	†		†	†	†			
Dietr.	0	0	0	0	0	0	†	0	0	0	0	†	
Dietrs.	0	0	0	†				0	0	0	†		
Z.	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
Eis.	0	0	†	†				0	0	0	†		
Rehb.	0	0	0	†						†	†		
Frak.	0	0	0	†						†	†		
	Stamm W							Stamm Zeit					
Deitr.	0	0	0	†				0	0	0	0	†	
Hoffm.	0	0	†	†	†					†	†	†	
Jö.	0	0	0	±	†			0	0	0	0	†	
Ked.			†	†	†			0	0	0	†	†	
Mü.	0	0	0	0	†			0	0	0	0	0	
Hub.				†	†	†		0	0	0	0	0	
	Stamm 29												
Typhusreconvalesc. Moabit	0	0	0	0									
	Stamm 29												
„ „	0	0	0	0	0								
Fre.				†									
Jabl.				†									
End.				†									
Bor.				†									

nvalescenten.

Reagensglas-Versuch gegenüber Stamm 151						gegenüber Stamm W							Agglutination mit Stamm 151						
0·01	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III.	0·1	0·01	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III.	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001
000					70000	5000						60000			–	–			
000					70000	4000						60000	+	+	+	+	+	+	–
000	4000	8000			70000	500	5000					60000	+	+	+	–			
000	300	10000			70000	10000	4000	1500	6000			60000	+	+	+	+	–		
000	15000				70000	15000						60000			–	–			
					70000	III.	III.					60000	+	+	+	–			
					70000							60000	+	+	+	–			
Stamm W						Stamm Zeitler							Stamm W						
					30000	31000	10000					50000			–	–	–		
400	8000	3400			30000	800	2000	10000				50000	+	+	+	+	+	–	
000	1000	1000			30000	3000	4000	700	10000	7000		50000	+	+	+	+	+	–	
600	4000				16000	20	300	500	8000			50000	+	+	+	+	+	–	
450					16000	20	600	1000	6000			50000	+	+	+	+	+	–	
000					16000	300	10000					50000	+	+	+	+	–		
Stamm 29													Stamm T.-E.						
800	3000	20000	50000		60000								+	+	+	+	+	+	–
													Stamm T.-E.						
000	30000	50000			60000								+	+	+	+	+	–	
Stamm W																			
inwirkung					40000										–				
8000	10000				50000								+	+	+	–			
15000					50000										–				
					50000										–				



Tabelle

		Pfeiffer'scher Versuch gegenüber Stamm 151							gegenüber Stamm					
		0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002
Alw.	vor der Injection	0	0	†						†				
	n. d. I. u. II. Inj. (1 u. 2 Oesen)	0	0	0	0	0	†		0	0	0	0	†	
Kud.	vor der Injection	0	†											
	n. d. I. u. II. Inj. (1 u. 2 Oesen)	0	0	0	0	0	†		0	0	0	0	0	0
Klo.	vor der Injection	†	†											
	nach der I. Injection (1 Oese)	0	0	0	0	†			0	0	0	0	0	†
Zaw.	vor der Injection	†	†											
	nach der I. Injection (1 Oese)	0	0	0	0	0	±	†	0	0	0	0	0	0
	„ „ II. „ (2 Oesen)	0	0	0	0	0	†		0	0	0	0	0	0
Flemm.	vor der Injection	0	0	†										
	nach der I. Injection ($^1/_{30}$ Oese)	0	†						0	†				
	n. d. II. u. III. Inj. ($^1/_{15}$ u. $^1/_5$ Oese)	0	0	0	†	†			0	†				
Kut.	vor der Injection	†	†						0	†				
	nach der I. Injection ($^1/_{30}$ Oese)	0	0	†					0	0	†			
	n. d. II. u. III. Inj. ($^1/_{15}$ u. $^1/_5$ Oese)	0	†	†					0	†				
Len.	vor der Injection	†	†						0	†				
	nach der I. Injection	0	0	†					0	0	†			
	„ „ II. u. III. Injection	0	†	†					0	†				
Mert.	vor der Injection	0	†						0	†				
	nach der I. Injection	0	0	†					0	†				
	„ „ II. u. III. Injection	0	0	0	†				0	0	0	†		
Mein.	vor der Injection	†	†						0	†				
	nach der I. Injection	0	†						0	0	†			
	„ „ II. u. III. Injection	0	0	0	†									
Hein.	vor der Injection	†	†						†	†				
	nach d. Inject. (Neisser-Shiga)	0	†	†	†				0	0	0	0	†	
Citr.	vor der Injection	±	†						±	†				
	nach der Injection	±	†	†					0	0	†			
Dörp.	vor der Injection	±	†						0	†				
	nach der Injection	0	0	†					0	0	0	†		
Or.	n. d. Inject. (Bouilloncultur)	0	0	0	0	†								
Zah.	„ „ „ „	0	0	0	0	†			0	0	0	†		
Bred.	„ „ „ „	0	0	0	†									

…tzgeimpfte.

Reagensglas-Versuch gegenüber Stamm 151													Agglutination mit Stamm 151							
0·01	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III.	0·1	0·01	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III.	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001	
													+	±	—					
400			III.	III.	80000								+	+	+	+	—			
													—							
000	10000				80000								+	+	+	+	—			
													—							
400					60000								+	+	+	+	+	—		
													+	±	—					
000	15000				60000								+	+	+	+	+	—		
90	180				80000								+	+	+	+	+	+	+	—
													+	+	—					
					70000								+	+	±	—				
000					60000								+	±	—					
													—							
					70000								+	+	±	—				
					60000								+	+	+	+	±	—		
													—							
					70000								+	+	±	—				
					60000								+	+	+	—				
													—							
													+	+	—					
													+	+	+	—				
													+	±	—					
													+	+	+	—				
													+	+	±	—				
													+	±	—					
000					50000								+	+	+	—				
													—							
000	15000				50000								+	+	+	+	+	—		
													+	±	—					
000					50000								+	+	+	—				
00	1000				8000								+	+	+	—				
00	1000				8000								+	+	—					
500					8000								+	+	+	+	+			

Tabelle

	Pfeiffer'scher Versuch									
	0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005	0·0002	
	Stamm Tamble									
Ty.-Serum 69. Kaninchenser.	0	0	0	†						
	Stamm 69									
Ty.-Kaninchenserum 69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†
	Stamm Tamble									
Ty.-Kaninchenserum 2	0	0	0	0	0	0	0	0	†	
	Stamm 2									
Ty.-Kaninchenserum 2	0	0	0	0	0	0	0	0	†	
	Stamm T.-W.									
Ty.-Eselserum (entnommen 24. I. 05)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†
	Stamm T.-W.									
„ „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†
	Stamm 29									
Ty.-Eselserum (entnommen 18. IX. 04)	0	0	0	0	0	0	†			
	Stamm 29									
Ty.-Eselserum	0	0	0	0	0	0	†			
	Stamm 29									
Ty.-Eselserum, entnommen 18. VI. 04	0	0	0	0	0	0	†			

Tabelle

Serum Dr. Lentz, Reconvalesc.										
„ Weigelt, Kranker										
1. Kaninchenserum	0	0	0	0	0	†				
2. „	0	0	0	0	0	0	0	†		
3. „	0	0	0	0	0	0	†			
4. „	0	0	0	0	0	0	†			
5. „	0	0	0	0	0	0	†			
Fr. (Typhusreconvalesc. mit Paratyphus geimpft)										
Ja. (Typhusreconvalesc. mit Paratyphus geimpft)										
En. (Typhusreconvalesc. mit Paratyphus geimpft)										
Bor (Typhusreconvalesc. mit Paratyphus geimpft)										

rsera.

	Reagensglas-Versuch												Agglutination							
	0·001	0·0001	0·00001	0·000001	III. Bakt.								0·1	0·05	0·02	0·01	0·005	0·002	0·001	0·0005
Stamm Tamble																				
00	40000				150000															
Stamm 69																				
00					50000															
Stamm Tamble																				
00	400	600			50000															
Stamm 2																				
00	200	3000			40000															
Stamm T.-E.																				
00	500	12000			60000								1 : 20 000 +							
Stamm Dreweck																				
00	30	6000			40000															
Stamm 29. 1. Prüfung						Stamm 29. 2. Prüf. zu gleich. Zeit														
00	600	8800	8400		ca. 100000	11200	300	353	6000			ca. 100000	1 : 20 000 +							
Stamm T.-E. 1. Prüfung						Stamm T.-E. 2. Prüfung														
00	400	400	1240		ca. 100000	2400	900	700	600	3400		ca. 100000								
Stamm T.-E.																				
500	2000				ca. 100000															

aratyphussera.

													T.-W.							
Paratyphus B													+	+	+	+	+	+	—	
													+	+	+	+	+	+	—	
													+	+	+	+	+	+	+	—
keine Einwirkung													+	+	+	+	+	—		
													+	+	+	+	+	+	+	—
													+	+	+	+	+	+	—	
													+	+	+	+	+	—		
Paratyphus 140						Typhus W							T.-W.							Pt. 140
						17000	10000					40000			±	—				1:50 ±
keine Einwirkung						40000	2000	2500				40000			±	—				1:50 ±
						4000	7500					40000			±	—				1:50 ±
						7500						40000			±	—				1:50 ±

[Aus dem Königl. Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)
(Abtheilung für gefährliche Krankheiten. Vorsteher: Prof. Dr. W. Kolle.)

Ueber die Bindungsverhältnisse der Choleravibrionen.

Studien zur Theorie der Specificität.

Von

Dr. E. Meinicke, Dr. J. Jaffé,
Assistenten am Institut

und

Oberarzt Dr. J. Flemming,
freiwilligem Hilfsarbeiter am Institut.

(Hierzu Taf. VI.)

A. Einleitung.

Die vorliegenden Untersuchungen sind als Studien zu Arbeiten über die Frage der Choleraschutzimpfung am Menschen entstanden. Bekanntlich sind es vornehmlich zwei Methoden der Choleraschutzimpfung, welche in grossem Maassstabe angewendet worden sind und noch angewendet werden: die Haffkine'sche und die Kolle'sche Methode. Das Haffkine'sche Verfahren ist hauptsächlich in Indien erprobt worden; über das Kolle'sche liegen aus neuerer Zeit Berichte von Murata[1] vor, der es in Japan in ausgedehntem Maasse (mehr als 10000 Geimpfte) ausgeübt hat. Soweit sich aus den statistischen Angaben ein Urtheil gewinnen lässt, setzen beide Methoden die Morbidität und Mortalität an Cholera wesentlich herab. Ist demnach der Werth der Choleraschutzimpfung erwiesen, so erscheint es als äusserst wünschenswerth, die Frage nach den neuesten Gesichtspunkten der Immunitätslehre und auf Grund der erweiterten Kenntnisse über die Choleravibrionen wieder experimentell in Angriff zu nehmen. Bei den früher im Institut von Kolle[2] aus-

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXV.
[2] *Ebenda.* Bd. XIX. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897.



geführten wissenschaftlichen Untersuchungen über Choleraschutzimpfung wurde stets dieselbe Cultur benutzt. Sie war 2 Jahre auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet und hatte viele Male zur Erhaltung der Virulenz für Meerschweinchen den Thierkörper passirt. Es erschien geboten, für neue Versuche am Menschen verschiedene Culturen heranzuziehen. Den Untersuchungen am Menschen sind vergleichende Prüfungen am Thier mit Culturen verschiedener Herkunft, verschiedenen Alters und verschiedener Virulenz vorangeschickt worden. Besonders aber sollten zwei Fragen, die in der Litteratur zur Zeit noch umstritten sind, bearbeitet werden, nämlich die Beziehungen, die zwischen der immunisirenden Kraft einer Choleracultur einerseits, ihrer Virulenz und ihrer Bindungskraft andererseits bestehen. Die Bindungskraft für Bakteriolysine in bakteriolytischem Serum war neben der Fähigkeit, die Agglutinine aus agglutinirendem Serum zu binden, zu prüfen. Wir folgten daher gern der Anregung von Hrn. Prof. Kolle, dieses Thema experimentell zu bearbeiten.

B. Experimenteller Theil.

I. Herkunft der Culturen.

Zu unseren Versuchen standen uns im Ganzen 47 Choleraculturen zur Verfügung. Die Mehrzahl derselben stammt aus der ägyptischen Epidemie vom Jahre 1902. Dazu kommen sechs Cholerastämme aus Saratow, fünf aus Baku und eine Cultur aus Lodz. Die Saratow-Stämme wurden im Jahre 1905 von Hrn. Dr. Haller in Saratow, die Baku-Culturen von Hrn. Prof. Dr. M. Hahn während einer Reise im Herbst 1904 in Baku isolirt und uns überlassen, während die Cultur Asiatica uns von Hrn. Dr. Serkowski aus Lodz zur Verfügung gestellt wurde. Es sei auch an dieser Stelle den genannten Herren für ihre Liebenswürdigkeit unser verbindlichster Dank ausgesprochen. Auch die alte Cultur Cholera Pfeiffer wurde zu unseren Versuchen herangezogen. Sechs Culturen verdanken wir der Güte von Hrn. Prof. Dr. Gotschlich. Sie sind in El Tor im März 1905 von Hrn. Prof. Dr. F. Gotschlich aus dem Darm von Pilgern isolirt, die an intercurrenten Krankheiten (Dysenterie, Colitis) gestorben waren. Die Pilger hatten weder intra vitam Krankheitserscheinungen gezeigt, die auf Cholera deuten konnten, noch ergab der Obductionsbefund Anhaltspunkte, dass sie an Cholera gestorben waren. Die sechs aus dem Darm der Leichen isolirten Culturen zeigen alle charakteristischen Merkmale echter Choleravibrionen und wurden dementsprechend von Hrn. Prof. Dr. Gotschlich auch als solche angesprochen. Ausgedehnte Versuche, welche mit diesen Culturen im Kgl.



Institut für Infectionskrankheiten angestellt wurden und worüber von Prof. Dr. Kolle und dem einen von uns (Meinicke) Bericht erstattet[1] wurde, liessen an der Choleranatur der Stämme keinen Zweifel.[2]

Ueber Herkunft, Bezeichnung und Virulenz der Culturen auf Meerschweinchen giebt die folgende Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.

Lfde. Nr.	Namen der Culturen	Herkunft der Culturen	Virulenz a. Meerschw. zur Zeit der Einsendg. d. Culturen	Virulenz a. Meerschw. jetzt	Bemerkungen
1	1	Aegypten 1902	$^1/_4$ Oese		
2	6	"	$^1/_{10}$ "		
3	7	"	$^1/_8$ "		
4	13	"	$^1/_{10}$ "		
5	17	"	$^1/_4$ "		
6	19	"	$^1/_6$ "	> 1 Oese	
7	30	"	$^1/_4$ "		
8	32	"	$^1/_8$ "		
9	37	"	$^1/_4$ "		

[1] Dieser Bericht wird im *Klin. Jahrbuch* in Kürze veröffentlicht werden. Vgl. auch die Veröffentlichung von Dr. F. Gotschlich, Alexandrien 1905.

[2] Anmerkung. Bei Gelegenheit der Identificirung dieser Culturen wurde auch ihr Verhalten auf Platten von Kaninchenblutagar geprüft. Der eine von uns, Meinicke (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1904 und *diese Zeitschrift*, Bd. L), hatte im Gegensatz zu R. Kraus (*Wiener klin. Wochenschrift*, 1903, Nr. 50) und Schottmüller (*Münchener med. Wochenschrift*, 1904, Nr. 7) festgestellt, dass es Cholerastämme giebt, welche auf Blutagarplatten ausgeprägt helle Höfe um die einzelnen Colonieen bilden, und dass andere echte Choleraculturen dies nicht thun. Neuerdings stellt Prausnitz (*Berliner klin. Wochenschrift*, 1905, Nr. 19) wieder die Behauptung auf, Choleravibrionen machten auf Blutplatten keine Aufhellungszone, während dies choleraähnliche Vibrionen thäten; man könne demnach den Blutagar zur Differenzirung von Cholera und choleraähnlichen Culturen verwenden. Es sei dem gegenüber darauf hingewiesen, dass auch unter den sechs Culturen aus Alexandrien sich wiederum drei befinden, welche den Blutagar nicht nur um Bakterienrasen, sondern auch um ganz isolirte Culturen ausserordentlich stark aufhellen. Die Brauchbarkeit des Blutagars zur Choleradiagnose können wir nach unseren Untersuchungen nicht anerkennen. Uebrigens hat auch bereits Schottmüller (Biolog. Abthlg. des ärztl. Vereins Hamburg. Sitzung vom 14. III. 05. Referat: *Münchener med. Wochenschrift*, 1905, Nr. 23) seine Ansicht dahin modificirt, und Nachprüfungen im Wiener Serotherapeutischen Institut, aus dem die Arbeit von R. Kraus (a. a. O.) stammte, haben die Befunde des einen von uns bestätigt, wie aus einem demnächst im Ergänzungsband zum Kolle-Wassermann'schen *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* erscheinenden Artikel von Pribram über Bakterienhämolysine hervorgeht. Prausnitz steht daher mit seiner abweichenden Ansicht gänzlich isolirt.



Tabelle I. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Namen der Culturen	Herkunft der Culturen	Virulenz a. Meerschw. zur Zeit der Einsendg. d. Culturen	Virulenz a. Meerschw. jetzt	Bemerkungen
10	41	Aegypten 1902	1/2 Oese	1/2 Oese	
11	42	„	> 1/2 „		
12	45	„	> 1/2 „		
13	48	„	> 1/2 „		
14	54	„	1/4 „		
15	55	„	1/4 „	> 1 „	
16	58	„	1/3 „		
17	59	„	1/8 „		
18	60	„	> 1/2 „		
19	63	„	1/3 „	> 1 „	
20	66	„	1/4 „		
21	68	„	1/2 „	> 1 „	
22	69	„	> 1/2 „		Von Cultur 74 existirt ein nur auf künstlichen Nährböden fortgezüchteter Stamm 74 S und ein durch häufige Thierpassage virulent erhaltener 74 v.
23	72	„	> 1/2 „		
24	74	„	1/12 „	1/6–1/10 „	
25	82	„	1/3 „		
26	83	„	> 1/2 „		
27	84	„	1/3 „		
28	Pfeiffer	Geh.R.Pfeiffer		> 1 „	
29	Messina	Messina			
30	Asiatica	Russland 1905		1/4 „	wie bei 74 existirt ein Stamm As. S und As. v.
31	Hahn	„ 1904		1/4 „	wie bei 74 existirt ein Stamm Hahn S u. Hahn v.
32	Baku I	„	1/6 „	1/6–1/10 „	wie bei 74 existirt ein Stamm B I S u. B I v.
33	„ II	„	1/4 „		
34	„ III	„	1/4 „		
35	„ IV	„	1/4 „		
36	Saratow I	„ 1905	> 1/4 „		
37	„ II	„	> 1/4 „		
38	„ III	„	1/6 „	1/6–1/10 „	wie bei 74 existirt ein Stamm S III S und S III v.
39	„ IV	„	> 1/4 „		
40	„ V	„	> 1/4 „		
41	„ VI	„	> 1/4 „	> 1 „	
42	Gotschlich I	Aegypten 1905		1/10 „	
43	„ II	„		1/4 „	
44	„ III	„		1/6 „	
45	„ IV	„		1/10 „	
46	„ V	„		1/8 „	
47	„ VI	„		1/20 „	

Es sei schon an dieser Stelle besonders hervorgehoben, dass nicht nur die sechs in El Tor isolirten Culturen, sondern sämmtliche untersuchten Stämme sich morphologisch und biologisch wie echte Choleravibrionen verhielten. Vor Allem aber erwiesen sie sich auch in ihren Immunitätsreactionen als Choleraculturen. Sie wurden von einem hochwerthigen Pferdeserum, das mit der ägyptischen Cultur 74 hergestellt war, sämmtlich in annähernd gleichem Grade agglutinirt. Die Unterschiede in der Agglutinabilität der einzelnen Stämme waren in vollem Einklang mit den umfassenden Untersuchungen von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz[1] nur geringe. So weit die Culturen im Pfeiffer'schen Versuch gegen hochwerthiges baktericides Cholerakaninchenserum ausgewerthet werden konnten, verhielten sie sich ebenfalls in Uebereinstimmung mit den früheren Untersuchungen der ebengenannten Autoren als echte Choleraculturen. An einer anderen Stelle der Arbeit werden wir auf diese gleichmässige Beeinflussbarkeit der untersuchten Culturen durch hochwerthiges agglutinirendes und baktericides Choleraserum noch ausführlich zurückkommen. Mit einer Anzahl der Culturen sind bereits früher von den genannten Autoren Serumproben an Kaninchen hergestellt. Zahlreiche Stichproben, die auch wir in gleicher Weise vorgenommen haben, ergaben analog activen Immunisirungsversuchen stets das eindeutige Resultat von der Specificität der Immunitätsreactionen und der untersuchten Choleravibrionen.

II. Methodik.

Bevor wir zur Untersuchung der Bindungskraft der einzelnen Culturen schritten, wurden einige Vorversuche über die Methodik der Bindungsversuche gemacht. Bekanntlich waren Gruber und Durham[2] die ersten, welche die Beobachtung machten, dass bei der Agglutination von Typhusbacillen die Agglutinine verbraucht werden. Bordet[3] wandte dann zum ersten Male die Absorptionsmethode, welche Ehrlich und Morgenroth bei dem Studium der Hämolysine so vortreffliche Dienste geleistet hatte, auch auf Bakterienagglutinine an. Nach ihm haben sich dann zahlreiche Autoren mit diesem Gegenstand beschäftigt. Die von den einzelnen Forschern bei diesen Untersuchungen angewandte Methodik ist jedoch ausserordentlich verschieden. Umfassende Untersuchungen über die Bindungsverhältnisse der Bakterienagglutinine verdanken wir Eisenberg und

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XLIV.

[2] *Münchener med. Wochenschrift.* 1896.
Wiener klin. Wochenschrift. 1896.

[3] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899.



Volk.[1] Diese Autoren arbeiteten mit lebenden Culturen, liessen in der Regel die Mischung von Agglutinin und Bakterien 2 Stunden im Thermostaten bei 37° und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann centrifugirten sie die Bakterien ab und untersuchten die klare Flüssigkeit auf ihre agglutinirende Kraft. Das Agglutinationsresultat stellten sie erst fest, nachdem die Versuchsröhrchen 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Im Wesentlichen auf Grund dieser Versuche von Eisenberg und Volk hat Arrhenius[2] ein allgemeines Gesetz der Bindungsverhältnisse von Bakterien und Antikörpern zu formuliren gesucht. Man wird Neisser[3] Recht geben müssen, wenn er in einer Polemik gegen Arrhenius feststellt, dass die Methodik, mit der Eisenberg und Volk gearbeitet haben, keineswegs einwandsfrei ist. Denn

1. fehlen Controlagglutinationen mit Serumverdünnungen, welche dieselbe Zeit wie die Versuchsröhrchen der erhöhten Temperatur ausgesetzt waren,

2. wachsen die zur Absättigung benutzten Bakterien während der langen Dauer des Versuches und schaffen dadurch uncontrolirbare Verhältnisse,

3. ist die Möglichkeit vorhanden, dass in grossen agglutinirten Haufen Bakterien vor der Agglutinationswirkung geschützt werden.

Um diese letzte Fehlerquelle zu vermeiden, schüttelten Neisser und Lubowski[4] in eigenen Versuchen das Absorptionsgemisch alle 10 Minuten mit Glasperlen. Auch Hetsch und Lentz[5], sowie Wassermann[6] geben an, dass man die Versuchsröhrchen von Zeit zu Zeit umschütteln möge.

Während Eisenberg und Volk[7] das Absorptionsgemisch 24 Stunden bei Brüt- und Zimmertemperatur stehen lassen, sättigt z. B. Scheller[8] nur 2 Stunden bei 37° ab, Hetsch und Lentz[9] 1 Stunde bei Zimmertemperatur, Wassermann[10] $^3/_4$ Stunden auf Eis. Die Temperatur und die Zeit, in der die einzelnen Autoren die Bindung vor sich gehen lassen, ist darnach ausserordentlich verschieden.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XL.
[2] *Zeitschrift für Elektrochemie.* Bd. X. S. 661.
[3] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI.
[4] *Ebenda.* 1901.
[5] Koch's *Festschrift.*
[6] *Ebenda.*
[7] A. a. O.
[8] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI.
[9] A. a. O.
[10] A. a. O.



Einige Autoren geben an, dass es für den Endeffect ziemlich gleichgültig sei, wie lange und bei welcher Temperatur man die Absättigung vor sich gehen lässt. So wollen Buxton und Vaughan[1] beobachtet haben, dass die Bindung in 15 Minuten ebenso vollständig erfolgt, als in 24 Stunden, und R. Pfeiffer[2], dass eine $1^1/_2$ stündige Absättigung im Eisschrank dieselben Resultate liefere, wie eine bei 43° ausgeführte. In ähnlichem Sinne sprechen sich Eisenberg und Volk[3] aus.

Ein Theil der Autoren z. B. Joos[4] hat mit abgetödteten Culturen gearbeitet, um das Wachsthum der Bakterien auszuschalten und dadurch eventuell bedingte Fehlerquellen zu vermeiden.

Auch in der Serumconcentration und in der Menge der eingesäten Cultur bestehen die grössten Differenzen bei den in der Litteratur mitgetheilten Versuchen.

Bei den so ausserordentlich schwankenden Angaben über Zeit und Bedingungen der Absättigung schien es erwünscht, zunächst einige orientirende Vorversuche zu machen, nach deren Ausfall die endgültige Methodik für unsere Versuche festgestellt wurde.

Es wurden zuerst Versuche mit agglutinirendem Serum gemacht, deren Resultate kurz folgende sind:

1. In Uebereinstimmung mit den anderen Autoren stellten wir fest, dass die Serumconcentration und die Menge der verwandten Bakterien einen wesentlichen Einfluss auf den Grad der Absättigung ausübt. Zu stärkeren Serumconcentrationen muss entsprechend mehr Cultur hinzugesetzt werden, um dieselben Resultate wie mit grösseren Verdünnungen zu erzielen. Setzt man zu abgestuften Quantitäten Agglutinin gleiche Bakterienmengen, so bleiben in den starken Serumconcentrationen noch Agglutinine frei, während aus den niederen alle gebunden werden, wie das folgende Beispiel erläutert:

Tabelle II.

Pferdeserum I, mit 74 S hergestellt vom Agglutinationstiter 1:4000 ist in den Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:50 1 Stunde bei 37° unter Schütteln mit Stamm 74 S abgesättigt und zwar auf 1 ccm Serumverdünnung 1 Oese Cultur. Das Centrifugenklar ausagglutinirt mit Cultur 74 S.

Verdünnungen des Absorptionsgemisches	Verdünnungen der abgesättigten Sera						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
1:10	+++	+++	+++	++	+	—	
1:20	+++	+++	±	—	—	—	
1:50	+	±	—	—	—	—	
1:100	—	—	—	—	—	—	
Controle mit nicht abges. Serum	+++	+++	+++	+++	++	+	—

[1] *Journal of Medical Research.* Vol. XII.

[2] Koch's *Festschrift.*

[3] A. a. O.

[4] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXIII.



Andererseits nimmt aus derselben Serumverdünnung die grössere Bakterienmenge mehr Agglutinin heraus als die geringere.

Tabelle III.

Der Versuch wie auf Tabelle II mit dem Unterschiede, dass zu 1 ccm einer Serumverdünnung von 1:50 je $^1/_2$ Oese, 1 Oese, 2 Oesen Cultur zur Absättigung hinzugesetzt wurden.

Zur Absorption verwendete Culturmenge	Verdünnungen des Centrifugenklars				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
$^1/_2$ Oese in 1 ccm	+++	++	+	—	—
1 „ „ 1 „	±	—	—	—	—
2 Oesen „ 1 „	—	—	—	—	—

Controle wie auf Tabelle II.

2. Wenn die Bindung bei höherer Temperatur erfolgt, so tritt in der gleichen Zeit wie bei niedrigerer vollständigere Absättigung ein, doch sind hierbei die Unterschiede nicht sehr ausgesprochen.

3. Eine Stunde auf 60° erhitzte Choleravibrionen binden unter denselben Versuchsbedingungen ebenso viel Agglutinin wie lebende.

4. Einen wesentlichen Einfluss auf das Endresultat hat die Dauer der Bindung, wie wir im Gegensatz zu Eisenberg und Volk[1] und Anderen stets beobachten konnten.

Tabelle IV.

1. Agglutinationsversuch.

Pferdeserum II wird mit Cultur 74 S in der Verdünnung 1:50, $^1/_2$ Oese Cultur auf 1 ccm Serumverdünnung, bei 37° abgesättigt in 5 verschiedenen Proben, die nach je $^1/_4$ Stunde, $^1/_2$, $^3/_4$, 1 und 2 Stunden centrifugirt werden. Agglutination mit Cultur 74 S.

Dauer der Bindung	Verdünnungen des Centrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
$^1/_4$ Stunde	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	
$^1/_2$ „	+++	+++	+++	+	±	—	—	
$^3/_4$ „	+++	+++	++	—	—	—	—	
1 „	+++	+	—	—	—	—	—	
2 Stunden	+++	±	—	—	—	—	—	
Controle mit nicht abgesättigtem Serum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±

[1] A. a. O.

2. **Baktericider Versuch.**

Zu je 1^{ccm} einer Verdünnung 1:50 des bakteric. Serums 80 wird 1 Oese Cultur Baku I v. hinzugesetzt und 3 Proben dieses Gemisches bei 37° je $^1/_2$ Stunde, 1 und $2^1/_2$ Stunden geschüttelt. Das Centrifugenklar gegen Cultur Baku I v. im baktericiden Thierversuch ausgewerthet.

Dauer der Bindung	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
$^1/_2$ Stunde	lebt	lebt	†	†		
1 „	„	†	†	†		
2 Stunden	„	†	†	†		
Controle mit nicht abgesättigtem Serum			lebt	lebt	†	†

Wir sehen also, dass nach $^1/_4$ Stunde noch weit mehr Agglutinine ungebunden bleiben als nach $^1/_2$ Stunde. Die Menge des gebundenen Agglutinins im Verhältniss zum ungebundenen nimmt bei längerer Absättigung zu. Doch genügt ein 1stündiger Aufenthalt des Absorptionsgemisches im Thermostaten bei 37° in der Regel, um die grösstmöglichste Menge von Agglutinin an die Vibrionen zu verankern. Wie schon hier erwähnt sein mag, geben Versuche mit baktericidem Serum, wie Tabelle IV zeigt, analoge Resultate.

5. Eine wesentliche Vorbedingung für gleichmässige Versuchsresultate ist es, die Versuchskölbchen während der Absättigung dauernd zu schütteln, um das Zusammenklumpen zu grossen Haufen zu vermeiden. Der folgende Versuch zeigt, dass aus einem geschüttelten Absorptionsgemisch mehr Agglutinin gebunden wird, als aus einem unter sonst gleichen Bedingungen ruhig gehaltenen. Die Unterschiede sind zwar nicht bedeutend, treten aber constant auf.

Tabelle V.

Pferdeserum II in der Verdünnung 1 : 50 mit Cultur 74 S, $^1/_2$ Oese auf 1^{ccm} Serumverdünnung bei 37° in 4 Proben abgesättigt, die je $^1/_2$ Stunde ruhig standen, $^1/_2$ Stunde schüttelten, 1 Stunde ruhig standen, 1 Stunde schüttelten. Das Centrifugenklar mit 74 S agglutinirt.

Dauer und Art der Bindung	Verdünnungen des Centrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
$^1/_2$ Stunde ruhig . . .	+++	+++	++	+	±	—	—	
$^1/_2$ „ schütteln . .	+++	++	+	±	—	—	—	
1 Stunde ruhig . . .	+++	++	±	—	—	—	—	
1 „ schütteln . .	+++	±	—	—	—	—	—	
Controle mit nicht abgesättigtem Serum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±



Die Erklärung für diese Differenz ist wohl im Sinne Neissers[1] zu geben. Die Choleravibrionen klumpen so schnell zu grossen Flocken zusammen, dass mechanisch eine Anzahl von ihnen, die noch nicht der vollen Wirkung der Agglutinine ausgesetzt waren, mitgerissen und im Inneren der Haufen von dem umgebenden Agglutinin abgeschlossen werden. Dadurch wird die thatsächlich an der Bindung betheiligte Bakterienmenge kleiner als in dem Schüttelversuch, bei dem die Bildung grosser Haufen vermieden wird. Demgemäss können in dem geschüttelten Versuchskölbchen mehr Agglutinine gebunden werden als in dem ruhig gehaltenen. Mehrmaliges Umschütteln der Versuchskölbchen kommt dem dauernden Schütteln in der Wirkung nicht gleich. Vielmehr ist zwischen so behandelten und ruhig gehaltenen Gemischen kaum ein Unterschied zu constatiren.

Tabelle VI.

Pferdeserum I mit Cultur 74 S in der Verdünnung 1:20, zu 1 ccm Serumverdünnung 1 Oese Cultur, bei 37° 1 Stunde lang abgesättigt, in 3 Proben, von denen die erste ruhig stand, die zweite alle 10 Minuten, die dritte dauernd geschüttelt wurde. Das Centrifugenklar agglutinirt mit 74 S.

Dauer und Art der Bindung	Verdünnungen des Centrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
1 Stunde ruhig	+++	+	±	—	—	—	—	
1 St., alle 10 Min. geschüttelt	+++	+	±	—	—	—	—	
1 Stunde im Schüttelapparat geschüttelt	+	±	—	—	—	—	—	
Controle mit nicht abgesättigtem Serum	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

6. Die in der Litteratur häufig wiederkehrende Behauptung, die Bindung von Toxin, Antitoxin, Bakterien und ihren Antikörpern sei zunächst nur eine lockere und verhältnissmässig leicht zu trennende und würde erst vollkommen fest durch längeres Stehenlassen des Absorptionsgemisches, z. B. 24 Stunden lang oder des Nachts auf Eis, liess daran denken, dass auch bei unseren Versuchen diese Verhältnisse eine Rolle spielten. Es wäre denkbar gewesen, dass durch den mechanischen Eingriff des Centrifugirens ein Theil des nur ganz locker gebundenen Agglutinins wieder von den ausgeschleuderten Bakterien zu trennen wäre, dass eine Abspaltung des einmal gebundenen Agglutinins aber nicht mehr eintreten würde, wenn die Bakterien Gelegenheit fänden, das Agglutinin fest zu verankern. Unsere Versuche bestätigten diese Annahme nicht. Die Resultate blieben stets die gleichen, ob wir sofort nach Entnahme

[1] A. a. O.



aus dem Brütschrank centrifugirten, oder das Absorptionsgemisch über Nacht auf Eis stehen liessen und erst dann durch Centrifugiren klärten.

Bei der definitiven Versuchsanordnung waren für uns folgende Gesichtspunkte maassgebend:

1. Es kam darauf an, die bei einem bestimmten Verhältniss von Agglutinin zu Bakterien grösstmögliche Menge Agglutinin an die Bakterien zu verankern. Wir setzten daher das Absorptionsgemisch im Einklange mit unseren Vorversuchen 1 Stunde im Schüttelschrank der Temperatur von 37° aus. Die Versuchskölbchen länger als 1 Stunde im Thermostaten zu lassen, ist nicht nöthig, da bereits nach einer Stunde das Maximum der Agglutininbindung erreicht ist.

2. Da wir eventuell vorhandene Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Culturen eruiren wollten, wählten wir die Serumconcentrationen und Bakterienmengen so, dass nach erfolgter Absättigung noch etwas freies Agglutinin in der Flüssigkeit vorhanden war. Im Allgemeinen wurde der Versuch so angestellt, dass die nach der Absättigung von den Bakterien befreite Flüssigkeit noch in den Verdünnungen 1:50, 1:100, 1:200 oder 1:500 den zur Bindung benutzten Stamm agglutinirte. Bei Absorption grösserer Agglutininmengen hätten sich zwischen den einzelnen Culturen vorhandene Unterschiede der Beobachtung entziehen können. Wenn nämlich die Versuchsanordnung so gewählt wird, dass bei Benutzung eines schwach bindenden Stammes das abgesättigte Serum selbst in der Verdünnung 1:50 gegen den eigenen Stamm unwirksam ist, kann natürlich ein Unterschied gegen eine stark bindende Cultur nicht constatirt werden. In der Regel wurden bei den Absättigungsversuchen Serumconcentrationen von 1:10, 1:20 oder 1:50 verwandt und in je 10 ccm dieser Verdünnungen eine gleichmässig bewachsene Agarcultur aufgeschwemmt. Es wurden dazu stets Röhrchen von gleicher Oberfläche verwandt.

3. Die Zeit der Absättigung wurde nach Möglichkeit beschränkt. Die aus dem 37° Thermostaten genommenen Absorptionsgemische wurden sofort centrifugirt und decantirt. Von der klaren Flüssigkeit wurden dann mit physiologischer Kochsalzlösung Verdünnungen gemacht und in der im Institut für Infectionskrankheiten gebräuchlichen Weise zur makroskopischen Agglutination verwandt: d. h. in 1 ccm Serumverdünnung wurde eine Oese 18stündiger Choleraagarcultur verrieben und nach 1stündigem Aufenthalt des Agglutinationsgemisches bei 37° das Resultat makroskopisch festgestellt.

4. Zu den Absorptionsversuchen wurden lebende Culturen benutzt und zwar aus folgenden Gründen: Erstens ist die Möglichkeit vorhanden



lass die Choleraculturen beim Abtödten bei erhöhter Temperatur Spuren on agglutinabler Substanz an die Kochsalzlösung abgeben, dass also das Resultat durch das Vorhandensein sogenannter „freier Receptoren" unenau wird. Zweitens wird der Endeffect der Absorption, nämlich die uswerthung der abgesättigten Flüssigkeit gegenüber lebenden Culturen, eobachtet. Es erschien uns daher für die Einheitlichkeit der Versuchschnik erwünscht, auch die Absättigung mit lebenden Choleravibrionen orzunehmen. Eine wesentliche Vermehrung der Vibrionen und dadurch ervorgerufene Fehlerquellen sind bei der kurzen Versuchsdauer nicht zu rwarten.

5. Zur Controle wurden die entsprechenden nicht mit Choleravibrionen ersetzten Serumverdünnungen denselben Bedingungen wie die Absorptionsemische ausgesetzt. Mit dieser Serumprobe wurden dann die zu dem ersuche verwandten Culturen ausagglutinirt. Hierzu sei bemerkt, dass ch zwischen den während derselben Zeit auf Eis gehaltenen, bei 37° ler bei Zimmertemperatur stehenden Proben des unabgesättigten Serums emals Unterschiede in der Agglutinationswirkung zeigten.

Bei Absättigungsversuchen mit baktericidem Serum ergaben ch den mit agglutinirendem Serum angestellten entsprechende Reıltate. Auch hier zeigen sich dieselben Beziehungen zwischen Bindungssultat einerseits, Serumconcentration, Culturmenge, Zeit u. s. w. andererits, vgl. Tabelle IV. Bei der Wahl der definitiven Versuchsanordnung aren dieselben Gesichtspunkte maassgebend wie bei den Agglutinationsersuchen. Die Serumverdünnungen wurden mit stark alkalischer Bouillon ergestellt; die Auswerthung der Serumproben geschah in der Anordnung es Pfeiffer'schen Versuches. Selbstverständlich wurden dieselben Cauen wie bei den Agglutinationsversuchen beobachtet.

III. Bindungsversuche.

Es war Eingangs erwähnt worden, dass sich alle zu unseren Versuchen nutzten Culturen als echte Cholerastämme bewährt hatten, im Besondern ırden sie von einem hochwerthigen agglutinirenden Choleraserum sämmth annähernd gleich hoch beeinflusst. Dasselbe Serum agglutinirt choleranliche Vibrionen entweder gar nicht oder nur in ganz starken Concennen (1:20 bis 1:30).

Unsere Versuche, über die im Folgenden berichtet werden soll, haben ın ergeben, dass bei den Ausfällungsversuchen doch ziemlich erhebliche ıterschiede in der agglutinablen Substanz der Cholerastämme zu Tage eten. Um die Ausdrucksweise zu vereinfachen, sollen Culturen, welche h bei den Ausfällungsversuchen ähnlich oder gleich verhalten, als omologe", die sich dagegen verschieden verhalten, als „heterologe" be-



zeichnet werden. Eine Anzahl homologer Culturen bildet eine „Gruppe“. Also sowohl homologe wie heterologe Culturen sind einwandsfrei echte Cholerastämme, was, um Missverständnissen vorzubeugen, hier ausdrücklich bemerkt werden soll.

A. Agglutinationsversuche.

Zu den Absättigungsversuchen standen drei Sera zur Verfügung:

1. Ein agglutinirendes Pferdeserum II, hergestellt mit Cultur B I vom Titer 1:5000, dasselbe Serum nach einer weiteren Injection vom Titer 1:10000 bis 1:20000.

2. Ein agglutinirendes Pferdeserum III, hergestellt mit Cultur S III vom Titer 1:3000 bis 1:4000. Die Herstellung dieser beiden Sera geschah in der Weise, dass beide Pferde zunächst in etwa 10tägigen, später mehrwöchigen Intervallen intravenöse Injectionen von abgetödteten Choleravibrionen erhielten, beginnend vor $^1/_2$ Jahre mit der Dosis einer halben Cultur, allmählich steigend bis zur Injection von fünf Culturen des betreffenden Stammes.

3. Ein Cholera-Kaninchenserum 89, mit Stamm 74 hergestellt. Das Kaninchen hatte zunächst $^1/_{10}$ Oese bei 60° abgetödteter Cultur intravenös und nach 8 Tagen eine Cultur abgetödtet intraperitoneal erhalten. Das Serum hatte den Agglutinationstiter 1:1500.

Die Versuche wurden zunächst in der Weise angestellt, dass das betreffende Serum mit den verschiedensten Culturen abgesättigt wurde. Die decantirte Flüssigkeit wurde dann mit dem Stamm 74 ausgewerthet. Ueber die Resultate giebt Tabelle VII Auskunft.

Tabelle VII.

1. Pferdeserum II, Titer 1:5000, in der Verdünnung 1:20 bei 37° eine Stunde unter Schütteln mit verschiedenen Cholerastämmen (eine Cultur auf 10 ccm Serumverdünnung) abgesättigt und gegen Stamm 74 ausgewerthet.

Zur Absättigung verwandte Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:6000
74	+++	+	—	—	—	—	—	
G I	+++	+++	+++	++	++	+	±	
G II	++	+	+	—	—	—	—	
G III	+++	++	±	—	—	—	—	
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	
G V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	
G VI	+++	+	—	—	—	—	—	
B I	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	
Controle mit nicht abgesätt. Serum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—



Tabelle VII. (Fortsetzung.)

2. Derselbe Versuch wie 1 mit Pferdeserum II, Titer 1:10000 bis 20000, in der Verdünnung 1:50 abgesättigt.

Zur Absättigung verwandte Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklars								
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:15000
74	+++	++	++	—	—	—	—	—	
S III	+++	++	+	—	—	—	—	—	
B I	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	
19	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	
S VI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	
G IV	+++	+++	++	++	+	—	—	—	
55	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	
63	+++	+++	+++	++	±	—	—	—	
Controle mit nicht abgesätt. Serum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±

3. Derselbe Versuch mit Pferdeserum III, Titer 1:3000 bis 1:4000, in der Verdünnung 1:20 abgesättigt.

Zur Absättigung verwandte Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
74	—	—	—	—	—	—	—
G IV	+++	+++	++	±	—	—	—
B I	+++	+++	+++	—	—	—	—
S III	±	—	—	—	—	—	—
G VI	—	—	—	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	++	—	—	—	—
Pfeiffer	+++	+++	+++	+	—	—	—
Messina	+++	+++	+	—	—	—	—
30	+++	+++	±	—	—	—	—
63	+++	±	—	—	—	—	—
S VI	+++	+++	+++	+++	++	—	—
55	±	—	—	—	—	—	—
Controle mit nicht abgesätt. Serum	+++	+++	+++	+++	+++	++	±

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass die einzelnen Culturen sehr verschiedene Mengen Agglutinin bei gleichbleibender Versuchsanordnung zu binden vermögen. Es lag nahe, an quantitative Unterschiede in dem Bindungsvermögen der verschiedenen Choleraculturen zu denken, wie sie bereits von Pfeiffer und Friedberger[1], Wassermann[2] und Strong[3] beschrieben worden sind.

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1902.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* Ref. Bd. XXXIV.

[3] *Some Questions relating to virulence of mikroorganisms, with particular reference to their immunising power.*



Handelte es sich lediglich um quantitative Unterschiede in der Ausbildung einer an sich gleichartigen bindenden Kraft bei den einzelnen Culturen, so war zu erwarten, dass man auch mit einer schwach bindenden Cultur bei immer erneuter Absättigung allmählich alles Agglutinin zu binden vermag. Als eine derartige schwach bindende Cultur erschien nach der Tabelle B I.

Der in dieser Richtung angestellte Versuch gab nicht das erwartete Resultat. Bei wiederholter Einsaat tritt in dem Absorptionsgemisch (Serumverdünnung 1:20 Ser. II) überhaupt keine Agglutination mehr auf, sondern die Flüssigkeit bleibt gleichmässig trübe. Das Centrifugenklar agglutinirt jedoch Cultur 74 in annähernd unverminderter Weise weiter. Es gelingt also nicht, mit der Choleracultur B I aus einem Choleraserum alle auf die andere, ebenfalls echte Choleracultur 74 einpassenden Agglutinine zu binden.

Lassen sich diese Versuchsergebnisse mit Hülfe der Annahme eines differenten Receptorenapparates der Choleravibrionen erklären?

Aus den mitgetheilten Versuchen ist zunächst folgender Schluss zu ziehen:

1. Es gelingt auch mit einem scheinbar schwach bindenden Stamme alle Agglutinine aus dem Serum für den eigenen Stamm zu entfernen.

2. Zur Erklärung der auffallenden Thatsache, dass Cultur B I wohl im Stande ist, aus einem agglutinirenden Serum die Agglutinine für sich zu binden, nicht aber in nennenswerther Weise für Stamm 74, lassen sich, gestützt auf die Ehrlich'sche Theorie, zwei Hypothesen aufstellen:

a) Cultur 74 hat agglutinable Receptoren, welche B I fehlen. Cultur 74 findet dementsprechend in einem durch B I abgesättigten Serum noch Agglutinin vor, das zu keiner bindenden Gruppe von B I passt und daher der Bindung entzogen wurde. Andererseits aber absorbirt Cultur 74 alle Agglutinine für sich und für B I, wie aus Tabelle IX ersichtlich ist. Man könnte sich demnach vorstellen, dass die beiden Choleraculturen B I und 74 einen Grundreceptor G im Sinne Wassermann's[1] gemeinsam haben, daneben aber äusserst differente Partialreceptoren besitzen. Graphisch liesse sich das folgendermaassen darstellen:

$$\text{B I: } a,\ b,\ c,\ d,\ e,\ f,\ \mathbf{G}.$$

$$74\text{: } a,\ b,\ c,\ d,\ e,\ f,\ \mathbf{G}\ h,\ i,\ k,\ l,\ m,\ n.$$



[1] A. a. O.



Nach diesem Bilde erscheint es verständlich, dass Cultur 74 nicht nur für sich alle Agglutinine aus einem Choleraserum zu binden vermag, sondern auch für B I, dass aber andererseits B I nicht im Stande ist, auf 74 passende Agglutinine in nennenswerther Weise zu absorbiren.

b) Die andere Möglichkeit ist folgende: Cultur B I und 74 haben zwar dieselben Receptoren, aber ein Theil der Receptoren des Stammes B I hat nur eine äusserst geringe Affinität zu den Agglutininen des Serums. Diese mit geringer Avidität ausgestatteten Receptoren vermögen nur Spuren von Agglutininen zu binden. Das graphische Bild dürfte sich folgendermaassen gestalten:

$$\text{B I:}\quad \underbrace{a,\ b,\ c,\ d,\ e,\ f,\ g,}\ h,\ i,\ k,\ l,\ m,\ n.$$

$$\text{74:}\quad \underbrace{a,\ b,\ c,\ d,\ e,\ f,\ g,\ h,\ i,\ k,\ l,\ m,\ n.}$$

(Vgl. die beigefügte Taf. VI.)

Unter der Annahme, dass die Receptoren *h, i, k, l, m, n* der Cultur B I nur sehr schwache Avidität zu den Agglutininen des Serums haben, erklärt sich zwanglos das oben beschriebene auffallende Resultat der Bindungsversuche.

An einer anderen Stelle der Arbeit werden wir ausführlicher auf diese theoretischen Ueberlegungen eingehen. Es muss aber schon hier hervorgehoben werden, dass unserer ersten Annahme eines „Grundreceptors" und verschiedener differenter „Partialreceptoren" schwere Bedenken entgegen stehen. Ein Theil unserer Versuchsresultate lässt sich mit dieser Hypothese überhaupt nicht in Einklang bringen. Die zweite Erklärung jedoch, dass Choleraculturen (zunächst 74 und B I) dieselben Receptoren haben, dass aber die Avidität der einzelnen Receptoren zu den Agglutininen different ist, erklärt zwanglos die auffallenden Differenzen der einzelnen Culturen, wie sie sich bei den Bindungsversuchen zeigten. Kein einziger unserer zahlreichen Versuche, über die im Folgenden berichtet wird, steht mit dieser Annahme verschiedener Aviditätsverhältnisse im Widerspruch. Wir stehen daher nicht an, diesen Deutungsversuch als für den nach dem heutigen Stande unseres Wissens begründetsten zu erklären und beziehen uns im Folgenden stets auf ihn.

Nach diesen theoretischen Erörterungen, auf die wir an anderer Stelle noch zurückkommen werden, kehren wir zur Beschreibung unserer Versuche zurück.

Es hatte nach unseren ersten Versuchen den Anschein gehabt, als sei Cultur B I eine schwach bindende Cultur. War das thatsächlich der Fall?

Das musste ein Parallelversuch erweisen. Zu 10 ccm einer Serumverdünnung (Serum II Titer 1:5000) von 1:20 wurde eine Cultur B I

zugesetzt und ein entsprechender Versuch mit Cultur 74 angestellt. Die von den Bakterien befreite Flüssigkeit wurde dann gegen B I und 74 wechselseitig ausgewerthet. Dabei zeigte sich, dass B I für sich unter gleichen Versuchsbedingungen mindestens ebenso viel Agglutinin bindet wie Cultur 74 für sich. Man kann daher nicht ohne Weiteres sagen, dass B I ein geringeres Bindungsvermögen hätte. Wohl aber ergab sich ein Unterschied in der gegenseitigen Beeinflussung. Cultur 74 hatte auch die auf B I passenden Agglutinine gebunden, B I dagegen in Uebereinstimmung mit unseren früheren Versuchen nicht die für 74.

Tabelle VIII.

Pferdeserum II, Titer 1:4000 bis 5000, in der Verdünnung 1:20. je mit Cultur 74 und B I 10^{ccm} Serumverdünnung auf 1 Cultur bei 37^{0} 1 Stunde unter Schütteln abgesättigt und gegen 74 bezw. B I wechselseitig ausgewerthet.

Verdünnungen des mit B I abgesättigt. Serums	Cultur B I	Cultur 74	Verdünnungen des mit 74 abgesättigt. Serums	Cultur B I	Cultur 74	Controlen mit nicht abgesättigt. Serum	Cultur B I	Cultur 74
1 : 50	±	+ + +	1 : 50	±	+ + +	1 : 50	+ + +	+ + +
1 : 100	—	+ + +	1 : 100	—	+	1 : 100	+ + +	+ + +
1 : 200	—	+ + +	1 : 200	—	±	1 : 200	+ + +	+ + +
1 : 500	—	+ + +	1 : 500	—	—	1 : 500	+ + +	+ + +
1 · 1000	—	+ + +	1 : 1000	—	—	1 : 1000	+ + +	+ + +
1 : 2000	—	+ +	1 : 2000	—	—	1 : 2000	+ + +	+ + +
1 : 4000	—	—	1 : 4000	—	—	1 : 4000	+ +	+ + +
						1 : 5000	±	—

Man erhält dieselben Resultate, wenn man zur Absättigung statt eines verdünnten, unverdünntes Serum wählt. Nur muss man dann natürlich wesentlich grössere Bakterienmengen zur Bindung verwenden und das Serum mehrmals hinter einander absättigen. Bei einem in diesem Sinne angestellten Versuche erhielten wir erst nach siebenmaligem Absättigen des unverdünnten Serums mit grossen Bakterienmengen eine Uebereinstimmung mit den auf Tabelle VIII vermerkten Resultaten.

Die Versuche lehren in Uebereinstimmung mit den oben beschriebenen, dass die Receptoren der Cultur 74 sämmtlich eine starke Affinität zu den Agglutininen haben, dass aber bei Stamm B I nur ein Theil der Receptoren eine derartige Avidität besitzt, ein anderer Theil nicht, wie es in Zeichnung II skizzirt ist (vgl. die beigefügte Taf. VI).

In derselben Weise, wie mit diesen beiden Culturen, wurden nun Absättigungversuche mit anderen Choleraculturen angestellt. Sie ergaben, wie aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist, analoge Resultate. Ein Theil der Culturen verhielt sich dabei wie B I, ein anderer wie 74.



Tabelle IX.

1. Pferdeserum II, Titer 1:4000 bis 5000, in der Verdünnung 1:20, 1 Stunde bei 37° unter Schütteln mit verschiedenen Stämmen abgesättigt, gegen verschiedene Stämme ausgewerthet.

a) Auswerthung gegen 74.

Der zur Absättigung verwandte Stamm	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
74	+++	+	—	—	—	—	—
B I	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
S III	+++	+	—	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
G I	+++	+++	+++	++	++	+	±
G II	+	+	—	—	—	—	—
G III	+++	++	±	—	—	—	—
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
G V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
Controle	+++	+++	+++	+++	+++	++	+

b) Auswerthung gegen B I.

Der zur Absättigung verwandte Stamm	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
74	±	—	—	—	—	—	—
B I	±	—	—	—	—	—	—
S III	+	±	—	—	—	—	—
Hahn	+	—	—	—	—	—	—
G I	+	+	±	—	—	—	—
G II	+	±	—	—	—	—	—
G III	+++	+	±	—	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G V	++	±	—	—	—	—	—
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
Controle	+++	+++	+++	+++	++	+	—

c) Auswerthung gegen S III.

Der zur Absättigung verwandte Stamm	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
74	+++	+	—	—	—	—	—
B I	+++	+++	+++	++	++	+	—
S III	+++	+	—	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
G I	+++	+++	+++	++	++	+	±
G II	±	±	—	—	—	—	—
G III	+++	+++	+	—	—	—	—
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±
G V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
Controle	+++	+++	+++	+++	+++	++	+





Tabelle IX. (Fortsetzung.)

Serum II abgesättigt mit G IV.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:50..
G I	—	—	—	—	—	—	—
G II	+++	+++	+++	+++	++	+	—
G III	+++	+++	+++	+++	++	+	±
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G V	±	—	—	—	—	—	—
G VI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±
B I	±	—	—	—	—	—	—
74	+++	+++	+++	+++	+++	++	±
S III	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+

Serum II abgesättigt mit G VI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:50..
G I	+++	±	—	—	—	—	—
G II	+++	++	±	—	—	—	—
G III	+++	+	±	—	—		—
G IV	+++	+++	++	±	—	—	—
G V	+++	++	±	—	—	—	—
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
B I	+++	+	—	—	—	—	—
74	+++	++	±	—	—	—	—
S III	+++	+++	—	—	—	—	-

Controle mit nicht abgesätt. Serum	Stämme										
	G I	G II	G III	G IV	G V	G VI	B I	74	S III	Hahn	Pfeiffer
1 : 1000	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
1 : 2000	+	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	±	+++
1 : 5000	±	+	++	±	—	+++	±	±	+++	—	+++
1 : 10000	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	±

2. Pferdeserum III, in der Verdünnung 1:20, 1 Stde. bei 37° unter Schütteln mit verschied. Stämmen abgesättigt, gegen verschied. Stämme ausgewerthet.

a) Absättigung mit B I.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	—	—	—	—	—	—	—
74	+++	+++	+++	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G VI	+++	+++	+++	—	—	—	—

b) Absättigung mit G IV.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen d. Centrifugen..						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	—	—	—	—	—	—	—
74	+++	+++	++	±	—	—	—
S III	+++	+++	+++	—	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G VI	+++	+++	++	—	—	—	—



Tabelle IX. (Fortsetzung.)

c) Absättigung mit S III.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	+	—	—	—	—	—	—
74	—	—	—	—	—	—	—
S III	+	—	—	—	—	—	—
G IV	+	—	—	—	—	—	—
G VI	+	—	—	—	—	—	—

d) Absättigung mit G VI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	—	—	—	—	—	—	—
74	—	—	—	—	—	—	—
S III	—	—	—	—	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G VI	—	—	—	—	—	—	—

Controlen mit nicht abgesättigtem Serum.

	Stämme B I	74	S III	G IV	G VI
1 : 1000	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
1 : 2000	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+ + +
1 : 4000	±	+ +	+	±	+ +
1 : 5000	—	±	—	—	±

3. Pferdeserum II, Titer 1:10000 bis 20000, in der Verdünnung 1:50 bei 37° 1 Stunde unter Schütteln abgesättigt mit verschiedenen Stämmen (10 ccm Serumverdünnung auf 1 Cultur), ausgewerthet gegen verschiedene Stämme.

a) Absättigung mit 74.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
B I	+ + +	+ +	—	—	—	—	—
74	+ + +	+ + +	—	—	—	—	—
S III	+ + +	+	—	—	—	—	—

b) Absättigung mit S III.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
B I	+ + +	+ +	—	—	—	—	—
74	+ + +	+ + +	—	—	—	—	—
S III	+ + +	+	—	—	—	—	—

c) Absättigung mit B I.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
B I	+ + +	+ + +	+	—	—	—	—
S III	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +
G IV	+ + +	+ + +	+	—	—	—	—
Hahn	+ + +	+	—	—	—	—	—
Pfeiffer	+ + +	+ + +	+ +	+	—	—	—
d) Absättigung mit Hahn.							
B I	+ + +	+ +	+	—	—	—	—
S III	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
Pfeiffer	+ + +	+ + +	+ +	+	—	—	—
Hahn	+ + +	+ +	—	—	—	—	—

Tabelle IX. (Fortsetzung.)
Controlen mit nicht abgesättigtem Serum

	Stämme					
	B I	74	S III	G IV	Hahn	Pfeiffer
1 : 1000	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1 : 2000	+++	+++	+++	+++	++	+++
1 : 5000	+++	+++	+++	+++	±	+++
1 : 10 000	+	++	++	+	—	++
1 : 15 000	±	±	—	—	—	+
1 : 20 000	—	—	—	—	—	—

Tabelle X.

Pferdeserum II und Pferdeserum III in der Verdünnung 1 : 20 bei 37 [illegible] 1 Stunde unter Schütteln mit den Stämmen B I und 74 abgesättigt (10 [illegible] Serumverdünnung auf eine Cultur) und in den Verdünnungen 1 : 500 bezw. 1 : 200 gegen alle Stämme der Sammlung ausgewerthet.

Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit	
	B I	74	B I	74
1	+++	—	+++	—
6	+++	—	+++	—
7	+++	++	+++	—
13	+++	++	+++	—
17	+++	—	+++	—
19	+++	+++	+++	+++
30	+++	+++	+++	+++
32	+++	—	+++	—
37	+++	—	+++	—
41	+++	—	+++	—
42	+++	—	+++	—
45	+++	++	+++	—
48	+++	++	+++	—
54	+++	++	+++	—
55	+++	+++	+++	+++
58	+++	+	+++	±
59	+++	—	+	—
60	+++	—	+++	—
63	+++	+++	+++	+++
66	+++	—	++	+
68	+++	—	+++	—
69	+++	++	++	—
72	+++	—	+++	—
74	+++	—	+++	—
82	+++	+	+++	—
83	+++	+	+++	±
84	+++	—	+++	—
Pfeiffer	+	—	±	—
Messina	+++	+++	+++	+++
Asiatica	+++	—	+++	—
Hahn	—	—	—	—
B I	—	—	—	—
B II	+++	—	+++	—
B III	+++	—	+++	—
B IV	+++	—	+++	±
S I	+++	—	+++	—
S II	+++	—	+++	—
S III	+++	—	+++	—
S IV	+++	—	+++	—
S V	+++	—	+++	±
S VI	+++	+++	+++	++
G I	—	—	—	—
G II	+++	—	+++	—
G III	+++	—	+++	—
G IV	—	—	—	—
G V	—	—	—	—
G VI	+++	—	+++	—

Um nun zu sehen, ob in unserer Cholerasammlung sich ausser diesen beiden Gruppen (B I und 74) noch andere vorfinden, wurde das agglutinirende Serum mit B I einerseits und 74 andererseits abgesättigt und dann mit der decantirten Flüssigkeit die Agglutinationsprobe gegenüber allen Stämmen gemacht.

Da es ausserordentlich zeitraubend gewesen wäre, das abgesättigte Serum gegen alle Stämme genau auszuwerthen, wurde zu diesen Versuchen eine Verdünnung gewählt, bei der die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen B I und 74 erfahrungsgemäss scharf hervortraten. Das war bei Anwendung des Serum II die Verdünnung 1:500. Wie aus Tabelle IX hervorgeht, agglutinirt das mit Cultur B I abgesättigte Serum die homologen Culturen z. B. G I, G IV, G V in dieser Verdünnung nicht mehr; und auch das mit 74 abgesättigte Serum ist in dieser Verdünnung gegenüber den 74 homologen Stämmen wie S III, G II, G III, G VI u. s. w. unwirksam. Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle X zusammengestellt. Gleichzeitig enthält die Tabelle Versuchsresultate, die mit denselben Stämmen bei der Auswerthung des Serums III erzielt wurden. Hier war die geeignete Verdünnung 1:200. (Vgl. Tabelle X.)

Vergleicht man die neben einander gestellten Versuchsergebnisse, so sieht man, dass sich die Culturen nach ihrem Verhalten gegenüber den abgesättigten Serumproben in mehrere grosse Gruppen theilen lassen. Verhältnissmässig viele Culturen verhalten sich wie 74, einige wenige wie B I, andere wieder lassen sich zu keinem dieser beiden Stämme in Beziehung bringen. So wird z. B. Stamm 19 und S VI agglutinirt, einerlei ob das Serum mit B I oder 74 abgesättigt war.

Eine Anzahl von Stämmen, nämlich die Stämme 7, 13, 45, 48, 54, 58, 59, 66, 69, S V, zeigten bei den Versuchen mit Serum III ein dem Stamme 74 homologes Verhalten, wurden aber durch das mit B I und 74 abgesättigte Serum II noch agglutinirt. Die weiterhin mit dem abgesättigten Serum II vorgenommene genaue Auswerthung ihrer Agglutinabilität zeigte jedoch, dass die nächst höhere Verdünnung des mit 74 abgesättigten Serums (1:1000) auch für sie kein Agglutinin mehr enthielt, dass sie also, wie ja schon der Versuch mit Serum III zeigt, dem Stamme 74 homolog sind, zum Mindesten aber sehr nahe stehen müssen.

Andere Stämme wiederum, die Stämme 19, 30, 55, 63, Messina und S VI zeigten beim Versuche mit beiden Seris II und III ein von B I und 74 abweichendes Verhalten.

Mit derartigen, anscheinend den bisher gefundenen beiden Gruppen B I und 74 heterologen Culturen wurden nun weitere Bindungsversuche unternommen und das ausgefällte Serum gegen eine Anzahl bezüglich ihres Bindungsvermögens schon bekannter Stämme wie B I und S III



und gegen alle in ihrem Receptorenapparat noch ungeklärten Culturen ausgewerthet. Zu diesen Versuchen wurden auch die beiden Stämme Hahn und Pfeiffer herangezogen. Erster bot in Folge seiner etwas schweren Agglutinabilität, letzter in Folge seiner Neigung, spontan zu agglutiniren, Anlass, seine Gruppenzugehörigkeit genauer zu studiren. Die Versuche zeigen deutlich ein dem Stamme B I homologes Verhalten dieser beiden Culturen. Die Resultate sind in Tabelle XI niedergelegt.

Tabelle XI.

1. Pferdeserum III abgesättigt wie gewöhnlich mit:

a) Hahn.

Ausgewerthet gegen:	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000
B I	—	—	—	—	—	—
S III	+++	+++	++	—	—	—
Pfeiffer	±	—	—	—	—	—
19	+++	+++	+++	+	±	—
30	+++	+++	+++	+	—	—
55	+++	+++	+++	+	—	—
63	+++	+++	+++	+++	+	+
Messina	+++	+++	+++	+++	+	—
Hahn	±	—	—	—	—	—
S VI	+++	+++	+	±	—	—
b) Pfeiffer.						
B I	++	±	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+	—	—
Pfeiffer	+++	+	—	—	—	—
19	+++	+++	++	+	—	—
30	+++	+++	+++	++	—	—
55	+++	+++	+++	++	±	—
63	+++	+++	+++	+++	++	++
Messina	+++	+++	+++	+++	±	—
Hahn	++	+	—	—	—	—
S VI	+++	+++	±	—	—	—
c) Messina.						
B I	+++	+++	+	—	—	—
S III	+++	+++	+	—	—	—
Pfeiffer	+++	+++	++	—	—	—
19	±	—	—	—	—	—
30	+++	+++	+++	++	+	—
55	+++	+++	+++	+	—	—
63	+++	+++	+++	++	—	—
Messina	++	+	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	++	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

d) 30.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000
B I	+ + +	+ + +	+ + +	—	—	—
S III	+ + +	+ + +	±	—	—	—
Pfeiffer	+ + +	+ + +	+ + +	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
30	+ + +	+	—	—	—	—
55	+ + +	+ + +	+ + +	+	—	—
63	+ + +	+ + +	+ +	+ +	±	—
Messina	+ + +	+ + +	+	±	—	—
Hahn	+ + +	+	—	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—
e) 63.						
B I	+ + +	+	—	—	—	—
S III	+ + +	±	—	—	—	—
Pfeiffer	+ + +	+ +	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
30	+	—	—	—	—	—
55	+ + +	+ + +	—	—	—	—
63	+ + +	+ + +	—	—	—	—
Messina	+	—	—	—	—	—
Hahn	+ +	±	—	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—
f) 55.						
B I	+	—	—	—	—	—
S III	±	—	—	—	—	—
Pfeiffer	+ + +	+ +	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
30	±	—	—	—	—	—
55	+	±	—	—	—	—
63	±	—	—	—	—	—
Messina	—	—	—	—	—	—
Hahn	+	—	—	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—
g) S VI.						
B I	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +
S III	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	—
Pfeiffer	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	±
19	—	—	—	—	—	—
30	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+
55	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+
63	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +
Messina	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+
Hahn	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	±	—
S VI	—	—	—	—	—	—

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

h) 19.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000
B I	+++	+++	+++	+++	++	+
S III	+++	+++	+++	+++	++	±
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	++	+
19	—	—	—	—	—	—
30	+++	+++	+++	+++	++	+
55	+++	+++	+++	+++	++	+
63	+++	+++	+++	+++	+++	++
Messina	+++	+++	+++	+++	+++	+
Hahn	+++	+++	+++	++	±	—
S VI	—	—	—	—	—	—

2. Pferdeserum II, abgesättigt wie gewöhnlich mit:

a) 19.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000
19	++	++	+	—	—	—	—
S VI	++	++	±	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
B I	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
74	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
b) S VI.							
19	+	+	±	—	—	—	—
S VI	+	+	—	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+++	++	±
B I	+++	+++	+++	+++	+++	+	±
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
74	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
c) B I.							
19	+++	+++	+++	+++	++	+	+
S VI	+++	+++	+++	+++	++	+	+
S III	+++	+++	+++	++	+	—	—
B I	+++	+++	+++	++	—	—	—
G IV	+++	+++	++	+	±	—	—
74	+++	+++	+++	+++	++	±	—
d) G IV.							
19	+++	+++	+++	+++	++	+	±
S VI	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
S III	+++	+++	+++	+++	+	—	—
B I	+++	+++	++	+	—	—	—
G IV	+++	++	+	±	—	—	—
74	+++	+++	+++	+++	++	—	—

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

e) 55.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1:1000	1:2000	1 : 5000
19	+	+	±	—	—	—	—
S VI	+	+	±	—	—	—	—
55	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	—	—	—
63	+ + +	+ + +	+ + +	+	—	—	—
S III	+ + +	+ + +	+ + +	±	—	—	—
B I	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	—	—	—
74	+ + +	+ + +	+ + +	+	—	—	—
G IV	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	—	—	—
f) 63.							
19	±	—	—	—	—	—	—
S VI	±	—	—	—	—	—	—
55	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	±	—	—
63	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	±	—	—
S III	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	—	—
B I	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	—	—
74	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	—	—
G IV	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	—	—	—

Controlen.

Serum II.

	Stämme							
	B I	S III	G IV	19	S VI	74	55	63
1 : 1000	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
1 : 2000	+ + +	+ + +	+ + +	+	+ +	+ + +	+ + +	+ + +
1 : 5000	+ + +	+ + +	+ + +	±	+	+ + +	+ + +	+ + +
1 : 10000	+	+ +	+	—	—	+ +	+ +	+ +
1 : 15000	±	—	—	—	—	±	±	+
1 : 20000	—	—	—	—	—	—	—	+

Serum III.

	Stämme									
	B I	S III	Pfeiffer	19	S VI	30	55	63	Messina	Hahn
1 : 1000	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
1 : 2000	+ +	+ + +	+ +	+	±	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+
1 : 4000	±	+	+	—	—	+	+	+ + +	+ +	—
1 : 5000	—	—	—	—	—	±	±	+ +	—	—
1 : 10000							—	±		

Ausserdem wurden mit Culturen, die sich bei den bisherigen Versuchen wie B I bezw. 74 verhalten hatten, noch Stichproben in ausgedehntem Maasse vorgenommen und nochmals alle Stämme mit Serumproben agglutinirt, die der Bindung mit G IV und G VI (B I bezw. 74 homolog) ausgesetzt waren. (Siehe Tabelle XII.)



Tabelle XII.

Pferdeserum II bezw. III in der Verdünnung 1:20 bei 37° 1 Stunde unter Schütteln mit den Stämmen G IV und G VI (10 ccm Serumverdünnung auf 1 Cultur) abgesättigt und in den Verdünnungen 1:100 bezw. 1:200 gegen alle Stämme der Sammlung ausgewerthet.

Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit		Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit	
	G IV	G VI	G IV	G VI		G IV	G VI	G IV	G VI
1	+ + +	—	+ +	—	82	+ + +	+	+ + +	—
6	+ + +	—	+ + +	—	83	+ + +	+	+ + +	+
7	+ + +	+ +	+ + +	—	84	+ + +	±	+ + +	—
13	+ + +	+ +	+ + +	±	Pfeiffer	+	±	+	—
17	+ + +	—	+ + +	—	Messina	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
19	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	Asiatica	+ + +	—	+ + +	—
30	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	Hahn	+	—	—	—
32	+ + +	—	+ + +	—	B I	—	—	—	—
37	+ + +	—	+ + +	—	B II	+ + +	—	+ + +	—
41	+ + +	—	+ + +	—	B III	+ + +	—	+ +	—
42	+ + +	—	+ +	—	B IV	+ + +	—	+ + +	±
45	+ + +	+ +	+ + +	—	S I	+ + +	—	+ + +	—
48	+ + +	+ +	+ + +	—	S II	+ + +	—	+ + +	—
54	+ + +	+ +	+ + +	—	S III	+ + +	—	+ + +	—
55	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	S IV	+ + +	—	+ +	—
58	+ + +	+ +	+ + +	±	S V	+ + +	+ +	+ + +	±
59	+ + +	—	+ +	—	S VI	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
60	+ + +	—	+ + +	—	G I	—	—	—	—
63	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	G II	+ + +	—	+ + +	—
66	+ + +	+	+ +	+	G III	+ + +	—	+ +	—
68	+ + +	—	+ + +	—	G IV	—	±	—	—
69	+ + +	+ +	+ +	—	G V	—	—	—	—
72	+ + +	—	+ + +	—	G VI	+ + +	—	+ + +	—
74	+ + +	—	+ +	—					

Die Tabelle ergiebt eine fast völlige Uebereinstimmung mit den oben mit B I bezw. 74 erzielten Resultaten (vgl. Tabelle X).

Aus den mitgetheilten Versuchen lassen sich Schlüsse in zweifacher Richtung ziehen. Einmal werfen sie ein Licht auf die biologischen Eigenschaften der agglutinablen Substanz bei einer bestimmten Choleracultur, zweitens lassen sie deutlich eine Gruppirung der untersuchten Culturen je nach ihrem Verhalten bei Bindungsversuchen erkennen.

Zum ersten Punkte lässt sich sagen:

1. Es giebt Choleraculturen, deren agglutinable Substanz (um im Ehrlich'schen Bilde zu bleiben) aus Receptoren zusammengesetzt ist, die alle eine starke Avidität zu den Agglutininen des specifischen Serums aufweisen. Derartige Culturen finden in dem mit den verschiedensten



Stämmen abgesättigten Serumproben noch genug Agglutinin vor, um auszuflocken. Andererseits nehmen sie für alle anderen Choleraculturen, einerlei welcher Gruppe sie angehören, die Agglutinine beim Bindungsversuch mehr oder weniger fort. Solche mit gleichmässiger Avidität begabten Stämme stellen die Culturen 55 und 63 und in etwas weniger ausgesprochenem Maasse die Culturen Messina und 30 vor.

2. Bei anderen Cholerastämmen ist nur ein verhältnissmässig geringer Theil der Receptoren mit starker Affinität zu den Agglutininen des Serums ausgezeichnet, der Rest zeigt nur wenig Avidität. Diese Culturen nehmen nur für eine Minderzahl anderer Stämme beim Bindungsversuch die Agglutinine heraus. Sie selbst finden jedoch in dem mit anderen Culturen abgesättigten Serum meist nicht mehr genügende Mengen Agglutinin vor, um auszuklumpen. Ein Vertreter dieser Culturen ist B I.

3. Zwischen diesen beiden Extremen giebt es alle Uebergänge, wie die Culturen 74, S III u. s. w. beweisen.

Derartige Unterschiede in den Affinitätsverhältnissen des an sich gleichartigen Receptorenapparates der Choleravibrionen sind bisher nicht bekannt gewesen. Sie gestatten, die einzelnen Choleraculturen mit Hülfe von Bindungsversuchen in Gruppen einzutheilen. Die Choleranatur der Stämme wird dadurch natürlich, wie Eingangs dargethan ist, keineswegs in Frage gestellt.

Eine derartige Gruppirung unserer Culturen nach dem Ausfall der Absättigungsversuche ist in der folgenden Tabelle versucht:

Tabelle XIII.

Gruppirung der Cholerastämme unserer Sammlung.

B I	74	74 sehr nahe stehend	55	19
G I	1	7	63	S VI
G IV	6	13		
G V	17	45		
Hahn	32	48		
Pfeiffer	37	54		
	41	58		
	42	59		
	60	66		
	68	69		
	72	S V		
	82			
	83			
	84			
	Asiatica			
	B II—IV			
	S II—IV			
	G II—III			
	G VI			



Ganz scharf lässt sich die Trennung in homologe und heterologe Stämme nicht immer durchführen. Es kommen da Uebergänge vor, wie es ja auch bei derartigen biologischen Differenzen nicht anders zu erwarten ist. Ein genauer Vergleich der in den Tabellen niedergelegten Versuchsresultate zeigt wohl im Allgemeinen, dass homologe Culturen sich bei allen Versuchen gleich verhalten. Doch kommen auch Unterschiede vor. Da könnte man Uebergangsgruppen bilden oder Unterabtheilungen in den einzelnen Gruppen construiren. Vermuthlich würden sich übrigens bei einem noch grösseren Material als dem uns zur Verfügung stehenden auch noch weitere Gruppen entsprechend den Aviditätsverhältnissen aufstellen lassen. Eine derartige bis in's Extrem geführte Gruppirung der einzelnen Choleraculturen auf Grund ihrer Wahlverwandtschaft an der Hand von Bindungsversuchen hat aber keinerlei praktisches Interesse. Für uns kam es nur darauf an, zu zeigen, dass in der Avidität der agglutinablen Substanz oder vielmehr von Theilen der agglutinablen Substanz thatsächlich deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Choleraculturen bestehen.

Besonders hervorheben möchten wir in diesem Zusammenhange die grossen Differenzen, welche sich bei Bindungsversuchen mit den Culturen B I, G I, G IV, G V, Hahn und Pfeiffer einerseits und 19, S VI andererseits ergeben: Wie aus den oben mitgetheilten Tabellen hervorgeht, bleibt in einem mit B I abgesättigten Serum für 19 und S VI Agglutinin in genügender Menge frei, und umgekehrt wird die Cultur B I von einem Serum, das der Bindung mit S VI bezw. 19 ausgesetzt war, noch annähernd in demselben Grade agglutinirt wie von nicht abgesättigtem Serum. *Und trotz dieser grossen Verschiedenheit, die sich bei Bindungsversuchen ergiebt, werden diese sich anscheinend so fernstehenden Stämme durch beliebige Cholerasera in gleicher Weise agglutinirt.* Mit der Hypothese eines Grundreceptors und verschiedener sehr different gebauter Partialreceptoren verträgt sich diese Thatsache der gleichmässigen Beeinflussbarkeit der Culturen durch agglutinirende oder baktericide Sera nicht, wohl aber mit den durchaus verschiedenen Affinitätsverhältnissen in der agglutinablen Substanz. Die folgenden Schemata mögen erläutern, wie wir uns den Receptorenapparat der einzelnen Cholerastämme vorstellen: Die Buchstaben bezeichnen die einzelnen Receptoren, die bei allen Cholerastämmen dieselben und deshalb mit den gleichen Buchstaben bezeichnet sind. Die unterstrichenen Receptoren sind die mit grosser Avidität ausgerüsteten.

55: $\underline{a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.}$

74: $\underline{a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n,}$ $o, p, q, r, s.$

B I: *a, b, c, d, e, f, g, h. i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*

S VI: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*

Aus diesem Schema lassen sich die Resultate unserer Bindungsversuche einerseits und die scheinbar entgegengesetzten Agglutinationsversuche andererseits zwanglos erklären. Es ist anzunehmen (wir kommen darauf noch später zurück)[1], dass bei der Vorbehandlung eines Thieres mit Choleravibrionen für alle, auch die weniger aviden Receptoren der agglutinablen Substanz, passende Agglutinine gebildet werden; ein beliebiges Choleraserum enthält daher die auf die Receptoren *a* bis *s* einpassenden Agglutinine. Es ist nach dem obigen Schema ohne Weiteres verständlich, dass Cultur 55 die Agglutinine für alle anderen Stämme unserer Sammlung, 74 für einen ziemlich grossen Theil und B I bezw. S VI nur für verhältnissmässig wenige Stämme zu absorbiren vermögen. Es ist ferner einleuchtend, warum B I und S VI wechselseitig keine Agglutinine aus dem Serum für einander herausnehmen.

Ganz bis zur Titerhöhe agglutinirt allerdings Choleraserum nach der Absättigung auch heterologe Stämme nicht mehr. Vielmehr hat das abgesättigte Serum in geringem Grade auch gegenüber diesen an Titer eingebüsst, wie ein Vergleich der Tabellen lehrt, in denen stets die Controlproben mit dem nicht zur Bindung benutzten Serum verzeichnet sind. Diese Abnahme des Titers gegenüber heterologen Stämmen ist manchmal ausgesprochener, manchmal so gering, dass sie bei der gewählten Serumverdünnung überhaupt nicht in die Erscheinung tritt. Dass der Titer eines Serums auch gegenüber heterologen Stämmen, wenn auch in geringem Grade, nach der Absättigung gesunken ist, würde nach unserer Hypothese so zu erklären sein, dass bei sehr fernstehenden Stämmen, wie B I und S VI geringe Mengen Agglutinin für einander durch die mit schwacher Affinität ausgestatteten Receptoren gebunden werden. Dasselbe gilt für Culturen wie 74 und B I; nur kommt hier noch hinzu, dass auch bei Cultur B I die Receptoren *a* bis *g* dieselbe Affinität haben wie die entsprechenden des Stammes 74.

Alle mit Agglutininbindungsversuchen bei Choleravibrionen erzielten Resultate stehen demnach im Einklange mit unserer Theorie der verschiedenen Affinität und sind durch sie einer zwanglosen Erklärung zugänglich.

---

[1] Siehe S. 465.

B. Bakterieide Versuche.

Die Ansicht, welche Gruber und Durham[1] bei der Entdeckung der Agglutinine über ihre Bedeutung für die künstliche Immunität aussprachen, ist in der Folge wohl von allen Bakteriologen verlassen. Bereits im Jahre 1896 konnten Pfeiffer und Kolle[2] eindeutig nachweisen, dass die Agglutinine mit der Bakterienimmunität direct nichts zu thun haben. Die Ansicht der meisten Autoren geht vielmehr zur Zeit dahin, dass bei der Immunität gegen Typhus, Cholera und verwandte Krankheiten die baktericiden Kräfte des Blutes und der Körperflüssigkeiten die Hauptrolle spielen. In neuester Zeit sucht Bail[3] diese Anschauung durch zahlreiche Experimente zu widerlegen. Aber auch er muss zugeben, dass wenigstens bei der Immunität gegen Cholera die baktericiden Antistoffe augenscheinlich das ausschlaggebende Moment sind.

Wie Eingangs gesagt wurde, sind unsere Versuche als Vorarbeiten zu neuen Studien über die Choleraschutzimpfungsfrage gedacht. Es war daher von höchstem Interesse, zu untersuchen, ob auch die Bindungsversuche mit baktericiden Antikörpern, den Trägern der Immunität, dieselben Unterschiede zwischen den einzelnen Choleraculturen zu Tage treten lassen, wie die mit Agglutininen.

Natürlich war es wegen der Kostspieligkeit der Thierversuche unmöglich, die baktericiden Bindungsversuche auch nur annähernd in demselben Umfange auszuführen, wie wir das bei den Agglutinationsversuchen gethan hatten. Wir mussten uns hier darauf beschränken, Stichproben mit verschiedenen Stämmen und Serumproben zu machen. Es standen uns zur Verfügung:

1. Ein baktericides Kaninchenserum 80, hergestellt durch eine einmalige Injection einer abgetödteten Cultur 74 intraperitoneal, vom Titer 1 : 10000 gegen den eigenen Stamm.

2. Ein baktericides Kaninchenserum 89, hergestellt durch eine intravenöse Injection von $^1/_{10}$ Oese 74, abgetödtet und 11 Tage später Injection einer Cultur 74 abgetödtet intraperitoneal, vom Titer 1 : 8000 gegen den eigenen Stamm.

Die Resultate dieser Versuche stehen, wie das aus den beigefügten Beispielen (Tabelle XIV) ersichtlich ist, in vollkommener Uebereinstimmung zu den Ergebnissen der Agglutinationsversuche.

[1] A. a. O.
[2] A. a. O.
[3] *Archiv für Hygiene.* Bd. LII.

Tabelle XIV.

1. Baktericides Kaninchenserum 80 in der Verdünnung 1:20 wie üblich mit verschiedenen Culturen abgesättigt, gegen verschiedene Stämme im Pfeiffer'schen Versuche geprüft.

a) Ausgewerthet gegen Stamm S III *v*.

Die zur Absättigung verwandten Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklars 1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
S III *v*	0	+	+	+	
Asiatica *v*	0	0	+	+	
74 *v*	0	0	+	+	
B I *v*	0	0	0	0	
Hahn *v*	0	0	0	0	
Controle mit nicht abgesättigtem Serum					0

b) Abgesättigt mit G VI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen 1:200	1:500	1:1000	1:2000	Controlen mit nicht abgesätt. Serum 1:5000
S III *v*	0	+	+	+	0
74 *v*	0	+	+	+	0
G VI	+	+	+	+	0
B I *v*	0	+	+	+	0

c) Abgesättigt mit G IV.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen 1:200	1:500	1:1000	1:2000	Controle 1:5000
S III *v*	0	0	0	0	0
74 *v*	0	0	0	0	0
G IV	0	+	+	+	0
B I *v*	0	+	+	+	0

2. Serum 89.

a) Abgesättigt mit B I.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen 1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	Controle 1:2000
B I	0	+	+	+	+	+	0
74	0	0	0	0	0	+	0
S III	0	0	0	0	0	0	0

b) Abgesättigt mit Pfeiffer.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen 1:200	1:500	1:1000	1:2000
B I	0	+	+	+
74	0	0	0	+
S III	0	0	0	0

Auch bei den baktericiden Absättigungsversuchen verhalten sich die einzelnen Choleraculturen so verschieden von einander, dass man sie danach in homologe und heterologe Stämme trennen und in Gruppen vertheilen kann. Diese Gruppen entsprechen vollkommen den bei den Agglutinationsversuchen aufgestellten. So nimmt z. B. Cultur B I aus dem baktericiden Serum die Antistoffe für sich heraus, nicht aber für Cultur 74 und S III. Ebenso wie B I verhält sich G IV und Hahn. Umgekehrt absorbiren die Culturen S III, 74, Asiatica und G VI nicht nur für die homologen Stämme die Bakteriolysine, sondern auch für die heterologen, wie z. B. B I.

Also auch bei den Bindungsversuchen mit bactericiden Amboceptoren treten Unterschiede zwischen den einzelnen Cholerastämmen zu Tage. Auch hier erklären wir uns die Differenzen nicht aus dem Vorhandensein verschiedener, nicht identischer Partialreceptoren, sondern aus Unterschieden in der Affinität an sich gleichartiger Receptoren. Diese Aviditätsverhältnisse für baktericide Antikörper entsprechen bei allen untersuchten Choleraculturen genau denen für Agglutinine. Die Individualität der einzelnen Choleraculturen tritt daher nach beiden Richtungen hin gleichmässig zu Tage.

Es sei hier beiläufig bemerkt, dass auf das Vorhandensein derartiger grosser Unterschiede in der Affinität des Bakterienleibes zu den Antistoffen, wie sie uns die Bindungsversuche mit Choleravibrionen gezeigt haben, weder bei Choleravibrionen noch bei anderen Bakterienarten bisher Rücksicht genommen worden ist. So erklären sich z. B. wohl zum Theil die verschiedenen Resultate, die von den einzelnen Autoren beim Immunisiren mit Bakterien, die mit Agglutininen oder baktericiden Amboceptoren beladen waren, erzielt worden sind. So haben R. Pfeiffer[1], Rehns[2] und Nicolle und Trénel[3] im Gegensatz zu anderen Autoren mit agglutinirten Typhusbacillen wirksam agglutinirende Sera herstellen können. Nicolle[4] zieht aus diesen Versuchen weitgehende Schlüsse über die Natur des Agglutinationsvorganges.

Bei allen derartigen Versuchen ist die Annahme nicht von der Hand zu weisen, dass mit schwachen Affinitäten ausgestattete Receptoren, die im Reagensglase nur minimale Mengen Antikörper zu binden vermögen, doch befähigt sind, im Thierkörper zur Bildung von entsprechenden Antistoffen Veranlassung zu geben. Dabei ist noch unberücksichtigt geblieben, dass ein Theil der an die Bakterien gebundenen Antikörper im Thierkörper wieder frei wird, wie die schönen Versuche von Pfeiffer und Friedberger[5] für die baktericiden Amboceptoren des Choleraserums beweisen.

Auch bei anderen Untersuchungen über die Bakterienreceptoren und die zugehörigen Antistoffe wie Agglutinine und Bakteriolysine ist die Mannigfaltigkeit in den Affinitätsverhältnissen der einzelnen Culturen vielfach vernachlässigt worden. So bei den Versuchen über den Einfluss der Hitze auf die Verbindung von Agglutinin und Bakterien, bei den Immunisirungsversuchen mit erhitzten Bakterien und anderen mehr. Die so

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901.

[2] *Compt. rend. de la Soc. de Biol.* 1900.

[3] *Ebenda.*

[4] *Annales de l'Institut Pasteur.* T. XVIII.

[5] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXIV.



ausserordentlich differenten Angaben der Autoren, die derartige Untersuchungen ausgeführt haben, finden wohl zum Theil ihre Erklärung in den complicirten Verhältnissen des Receptorenapparates der Bakterien, wie sie unsere Versuche für die Choleravibrionen dargethan haben.

C. Bindungskraft und Virulenz.

Man findet vielfach in der Litteratur Angaben über den Parallelismus von Virulenz und Bindungskraft bei den verschiedensten Bakterienarten. So hatten Pfeiffer und Friedberger[1] auf Grund von Versuchen mit vier verschiedenen Cholerastämmen geschlossen, dass der virulenteste Stamm auch die meisten bindenden Gruppen besitze, und diese Anschauung durch theoretische Betrachtungen zu erklären gesucht. Ihre Untersuchungen wurden von Strong[2] im Wassermann'schen Laboratorium an zwei Choleraculturen nachgeprüft. Er kommt zum gleichen Resultate wie Pfeiffer und Friedberger. Seine Schlusssätze seien hier wörtlich angeführt: „The virulent cholera spirillum possesses a greater number of bacteriolytic and agglutinable haptophore groups, or these groups are endowed with a greater binding power for uniceptors and amboceptors than the avirulent.

The number or the avidity of the bacteriolytic receptors possessed by a bacterium is directly proportional to its virulence."

Strong stellt sich also unbedingt auf den Boden der Pfeiffer-Friedberger'schen Anschauungen und bringt in seiner Arbeit ein reiches theoretisches Material zur Begründung seines Standpunktes vor.

Wassermann[3] dagegen spricht sich in einem über denselben Gegenstand gehaltenen Vortrag wesentlich anders aus. Er hatte bei seinen Untersuchungen eine Choleracultur A in Händen, die 15 Mal mehr Amboceptoren band als eine Cultur B, ein 15 Mal höheres Serum erzeugte und 15 Mal virulenter war. „Man könnte daher sagen" — so führt Wassermann aus — „dass das 15 Mal höhere Serum nicht die Folge der höheren Bindungsfähigkeit, sondern vielmehr der höheren Virulenz sei. Dass es aber nicht so ist, konnte ich bei der quantitativen Vergleichung des immunisatorischen Effectes verschiedener Typhusculturen nachweisen. In praktischer Hinsicht käme also Bindung, nicht Virulenz in Frage." Wassermann kommt also zu seinem reservirten Standpunkt lediglich durch einen Analogieschluss, während seine bezw. Strong's mit Cholera vorgenommenen Experimente im Sinne der Pfeiffer-Friedberger'schen Versuche ausfielen.

[1] A. a. O.

[2] A. a. O.

[3] *Centralblatt für Bakteriologie*. Referate. Bd. XXXV.



Unsere eigenen Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Virulenz und Bindungskraft der einzelnen Choleraculturen sind zum Theil schon zerstreut in den oben gegebenen Tabellen enthalten. Aus diesen geht hervor, dass weder bei den Agglutinations- noch bei den baktericiden Versuchen Unterschiede in der Bindungskraft virulenter und avirulenter Culturen zu Tage treten.

Bei der Wichtigkeit der Frage für die Choleraschutzimpfung wurden aber noch besondere Vergleichsversuche in dieser Richtung angestellt. Natürlich wurden zu diesen Versuchen nur homologe Culturen verschiedener Virulenz verwandt und nicht heterologe, da bei diesen die Resultate, wie das unten noch näher ausgeführt wird, nicht eindeutig gewesen wären.

Wir machten zunächst Agglutinations-Bindungsversuche und zwar mit homologen Culturen ganz verschiedener Virulenz. Es befanden sich darunter Stämme, die noch in der geringen Menge von $^1/_{20}$ Oese Meerschweinchen von 200 grm bei intraperitonealer Infection zu tödten vermochten. Zum Vergleich wurden ganz avirulente Culturen, die nicht einmal in der Dosis einer Normalöse gleich schwere Meerschweinchen zu tödten vermochten, herangezogen. Die Versuche sind in Tabelle XV niedergelegt.

Tabelle XV.

Pferdeserum II (Titer 1:5000), abgesättigt wie gewöhnlich mit Cultur 41 (Virulenz $^1/_2$ Oese) bezw. Cultur 68 (Virulenz > 1 Oese) und ausgewerthet gegen 41, 68, B I, S III.

a) Absättigung mit Stamm 41.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	+	–	–	–	–	–
68	+++	±	–	–	–	–	–
B I	±	–	–	–	–	–	–
S III	+++	±	–	–	–	–	–

b) Absättigung mit Stamm 68.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	++	±	–	–	–	–
68	+++	++	±	–	–	–	–
B I	+	±	–	–	–	–	–
S III	+++	+++	±	–	–	–	–

Pferdeserum II abgesättigt mit Cultur G VI (Virulenz $^1/_{20}$ Oese) bezw. Cultur 74 *v.* (Virulenz $^1/_6$ Oese.)

c) Absättigung mit Stamm G VI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	+	–	–	–	–	–
68	+++	++	–	–	–	–	–
B I	+++	+	–	–	–	–	–
S III	+++	+++	–	–	–	–	–

d) Absättigung mit Stamm 74 *v.*

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	++	–	–	–	–	–
68	+++	±	–	–	–	–	–
B I	+++	+	–	–	–	–	–
S III	+++	++	–	–	–	–	–

Controlen:

	Verdünnungen des nicht abgesättigten Serums							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:6000
41	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
68	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	—
B I	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

Ein Unterschied in der bindenden Kraft avirulenter und virulenter Choleraculturen ist darnach nicht zu constatiren. Unter den virulenten Culturen fanden sich frisch aus dem Menschen gezüchtete, die erst wenige Meerschweinchenpassagen durchgemacht hatten (z. B. GVI), und eine ältere aus der ägyptischen Epidemie stammend, die schon seit 1902 regelmässig in ungefähr 10tägigen Intervallen durch den Meerschweinchenkörper gegangen war (74*v*) und ihre Virulenz vollkommen erhalten hatte.

Einen weiteren Vergleichsversuch machten wir mit dieser Passagecultur 74 und der entsprechenden Sammlungscultur, die seit 1902 ohne jede Thierpassage auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet war. Sie hatte eine Virulenz von 1/2 Oese.

Tabelle XVI.

Pferdeserum II, 1:10000 bis 20000, abgesättigt mit 74*v* und 74*S*.

a) Absättigung mit 74*v*.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
B I*S*	+++	+	—	—	—	—
B I*v*	+++	+	±	—	—	—
74*S*	++	+	—	—	—	—
74*v*	+++	+	—	—	—	—
S III*S*	+++	++	—	—	—	—
S III*v*	+++	+	—	—	—	—

b) Absättigung mit 74*S*.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl. 1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
B I*S*	+++	++	—	—	—	—
B I*v*	+++	+	—	—	—	—
74*S*	+++	++	—	—	—	—
74*v*	+++	+	—	—	—	—
S III*S*	+++	+	—	—	—	—
S III*v*	+++	+	—	—	—	—

Controlen mit nicht abgesättigtem Serum.

	Verdünnungen des nicht abgesättigten Serums					
	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:15000	1:20000
B I*S*	+++	+++	+++	++	±	—
B I*v*	+++	+++	+++	+	±	—
74 *S*	+++	+++	+++	+	±	—
74 *v*	+++	+++	+++	++	±	—
S III*S*	+++	+++	+++	+	—	—
S III*v*	+++	+++	+++	+	—	—



Die Tabelle XVI ergiebt eine völlige Uebereinstimmung in der bindenden Kraft des Passage- und des Sammlungsstammes. Auch in ihrer Agglutinabilität gegenüber dem Serum zeigten sie keine Differenzen.

Dieselben Versuche wurden darnach mit baktericidem Serum gemacht. Das Resultat war das gleiche wie bei den Agglutinationsbindungsversuchen. Die Tabelle XVII giebt darüber Aufschluss.

Tabelle XVII.

Serum 89 abgesättigt mit Stamm 41, Virulenz $^1/_2$ Oese.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000
74	0	0	+	+	0
S III	0	0	+	+	0

Serum 89 abgesättigt mit Stamm 68 (1 Oese intraperitoneal tödtet nicht).

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 2000
74	0	0	+	+	0
B I	0	0	+	+	0

Serum 89 abgesättigt mit Stamm S III*v* (Virulenz $^1/_6$ Oese).

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000
B I	0	+	+	+	0
74	0	0	+	+	0
S III	0	+	+	+	0

Serum 89 abgesättigt mit Stamm 74*v* (Virulenz $^1/_6$ Oese).

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000
B I	0	0	+	+	0
74	0	0	+	+	0
S III	0	0	+	+	0

Im Gegensatz zu Pfeiffer und Friedberger[1], sowie Strong[2] konnten wir somit feststellen, dass die bindende Kraft einer Choleracultur weder für die Agglutinine noch für die wichtigeren Immunkörper eines Choleraserums in irgend welchem Zusammenhange mit der Virulenz steht.

[1] A. a. O.

[2] A. a. O.



Die Erklärung für die abweichenden Resultate der anderen eben erwähnten Autoren ist unschwer zu finden. Pfeiffer und Friedberger sättigten ihr Serum mit vier Culturen verschiedenster Virulenz ab, wertheten das abgesättigte Serum aber nur gegen einen einzigen virulenten Stamm aus. Strong arbeitete sogar nur mit zwei Culturen, einer virulenten und einer avirulenten, und prüfte das abgesättigte Serum ebenfalls nur gegen die eine virulente Cultur im Pfeiffer'schen Versuch. Auf so schmaler Basis stehende Versuche können für die vorliegende Frage keine eindeutigen beweisenden Resultate geben. Man muss derartige Untersuchungen, was Kolle stets betont hat, an einem möglichst reichhaltigen Material anstellen, um zu beweisenden Schlüssen zu gelangen. Einige Beispiele mögen besser als Worte darthun, wie sehr man bei der Verwendung nur weniger Culturen und einseitiger Versuchsanordnung (Auswerthen gegen nur einen Stamm) Täuschungen ausgesetzt ist.

These 1. Cultur B I bindet Amboceptoren besser als die gleichvirulente Cultur 74, s. Tabelle XVIII.

Beweisender Versuch mit Amboceptoren: Serum 89 wird mit B I einerseits, 74 andererseits unter gleichen Versuchsbedingungen abgesättigt. Die von den Bakterien befreite Flüssigkeit wird im Pfeiffer'schen Versuch gegen B I ausgewerthet:

Das mit 74 abgesättigte Serum hat noch den Titer 1:500.
" " B I " " " " " " 1:100.

These 2. Cultur B I bindet Antikörper schlechter als die gleichvirulente Cultur 74. Das wie oben abgesättigte Serum wird gegen 74 ausgewerthet:

Das mit 74 abgesättigte Serum hat den Titer 1:500,
" " B I " " " " " 1:2000.

These 3. Avirulente Choleraculturen binden besser als virulente. Versuch: Serum 89 der Bindung mit B I virulent einerseits, 68 avirulent andererseits ausgesetzt. Die Auswerthung geschieht gegen 74 (vgl. Tabelle XIV und XVII):

Das mit 68 avir. abgesättigte Serum hat den Titer 1:500,
" " B I vir. " " " " " 1:2000.

These 4. Virulente Choleraculturen binden besser als avirulente. Versuch: Serum 89 abgesättigt mit Passagecultur 74 virulent einerseits, Sammlungscultur Pfeiffer avirulent andererseits, ausgewerthet gegen 74 (vgl. Tabelle XIV u. XVIII):

Das mit 74 abgesättigte Serum hat den Titer 1:500,
" " Pfeiffer " " " " " 1:1000.

Die von Pfeiffer-Friedberger[1] und Strong[2] erzielten Resultate lassen vermuthen, dass sie unter analogen Bedingungen, wie sie in unserem Versuch 4 skizzirt sind, gearbeitet haben. Die zahlreichen Tabellen Strong's[2] über seine baktericiden Bindungsversuche mit ihren grossen Differenzen zwischen der Bindungskraft seiner beiden Choleraculturen stehen im Uebrigen im besten Einklange mit unseren Versuchsresultaten. Nur können wir seinen Schlussfolgerungen keine Berechtigung zuerkennen.

Wenn man Choleraserum nach der Absättigung mit verschiedenen Cholerastämmen nur gegen eine Choleracultur auswerthet, so kann man unter Umständen grosse quantitative Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Culturen erhalten. Pfeiffer-Friedberger[1] und Strong[2] haben auch, wie aus ihren Schlussfolgerungen hervorgeht, nur an derartige quantitative Differenzen gedacht. In Wirklichkeit werden aber die anscheinend quantitativen Differenzen nur durch qualitative Verschiedenheiten im Receptorenapparat der einzelnen Choleraculturen vorgetäuscht, so zwar, dass Receptoren, die bei einer Choleracultur A starke Affinität zu den Antikörpern zeigen, bei einer Cultur B fast gar keine Avidität besitzen. Das lässt sich jederzeit demonstriren, wenn man nur zur Auswerthung der abgesättigten Serumproben möglichst verschiedene Culturen heranzieht.

Die Feststellung der am besten bindenden Cultur ist weit mühevoller und umständlicher, als man sich das sonst wohl vorgestellt hat. Der einzig brauchbare Weg scheint uns in dieser Richtung der zu sein: Absättigen eines agglutinirenden Serums mit verschiedenen Culturen und Auswerthen gegen möglichst viele Stämme. Erweisen sich hierbei Culturen noch als hoch beeinflussbar durch das abgesättigte Serum, einerlei mit welchem Stamme die Bindung erfolgte, so müssen mit diesen Culturen Bindungsversuche angestellt und das Serum wiederum gegen alle anderen Culturen ausgewerthet werden. So wird man schliesslich Stämme finden, die wie unsere Choleraculturen 55 und 63 für alle oder nahezu alle Culturen der Sammlung die Agglutinine zu binden vermögen. Hat man so Klarheit über die Gruppirung der Culturen nach ihrer Bindungskraft gegenüber den Agglutininen, so macht man Bindungsversuche mit baktericidem Serum und den gut bindenden Culturen. Fallen diese analog den Agglutinationsversuchen aus (nach unseren Erfahrungen ist das stets zu erwarten), so ist die Beweiskette geschlossen. Nur einer derartigen Cultur kann man das Prädikat „gut bindend" zuerkennen. Die Methode, das

[1] A. a. O.

[2] A. a. O.



abgesättigte Serum nur gegen einen Stamm auszuwerthen, ist zur Feststellung der bindenden Kraft einer Cultur ungeeignet.

In der Vernachlässigung der angeführten Grundsätze sind wohl auch die Verschiedenheiten in der Bewerthung der Bindungskraft und Virulenz bei den Typhusbacillen begründet, wie sie in den Arbeiten von Wassermann[1], Pfeiffer und Petterson[2] zu Tage treten. Auch hier ist in der Regel die abgesättigte Serumprobe nur gegen einen Typhusstamm ausgewerthet. Die von uns aufgestellten Grundsätze für die Bewerthung der Bindungskraft einer Choleracultur lassen sich zwanglos auf die Verhältnisse beim Typhusbacillus und anderen Bakterienarten übertragen.

IV. Beziehungen zwischen dem Stamm, mit dem ein Serum hergestellt ist, und dem Ausfall der Bindungsversuche.

Aus den Bemerkungen über die zu unseren Bindungsversuchen verwandten Sera ist ersichtlich, dass sie zum Theil mit Choleraculturen hergestellt waren, die bei Bindungsversuchen sich verschieden verhalten hatten. So stand uns ein agglutinirendes Pferdeserum II zur Verfügung, das mit dem Stamm B I, ein anderes Serum III, das mit S III erzeugt war.

Cultur B I gehört nicht zur Gruppe S III und es liegt daher die Vermuthung nahe, dass Bindungsversuche mit den beiden Sera verschiedene Resultate geben. Man konnte erwarten, dass aus dem B I-Serum durch Cultur B I die Agglutinine für alle anderen Cholerastämme gebunden würden, dass dagegen dem B I nicht nahestehende Culturen nur die Agglutinine für ihre Gruppe zu binden vermöchten. Dasselbe konnte für das mit S III hergestellte Serum gelten. Wie aus den oben mitgetheilten Tabellen hervorgeht, traf diese Erwartung nicht zu; vielmehr verhalten sich die beiden Sera bei Bindungsversuchen annähernd gleich.

Jedenfalls vertheilen sich sämmtliche Culturen in dieselben Gruppen, einerlei, mit welchem Serum die Ausfällungsversuche angestellt werden. Geringe Unterschiede bestehen allerdings in den quantitativen Verhältnissen bei den einzelnen Culturen, je nach der Wahl des Serums. So bleiben z. B. in dem mit B I hergestellten Serum nach Ausfällung mit B I mehr Agglutinine für S III u. s. w. frei, wie in dem mit S III hergestellten. Die Tabellen IX bis XII geben ein Bild dieser Verhältnisse.

[1] Koch's *Festschrift*.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie*. 1905. Nr. 1.



Es mag hier eingeschaltet werden, dass das Alter des Serums, sofern das Serum unzersetzt ist, keinen Einfluss auf den Ausfall der Bindungsversuche hat. In dieser Richtung wurden verschiedene Parallelversuche angestellt. Aus frisch entnommenem Blut durch Centrifugiren gewonnenes Serum verhält sich ganz genau wie solches, das sich spontan beim 24 stündigen Verweilen im Eisschrank abgeschieden hat. Auch im Vacuum getrocknetes Serum giebt analoge Resultate.

Die Zusammensetzung des Receptorenapparates der Choleravibrionen aus Einzelreceptoren verschiedenster Avidität konnte noch in einer anderen Weise in den verschiedenen Serumproben zu Tage treten. Es war wohl denkbar, dass z. B. Cultur 74 ein Serum erzeugte, in dem messbar mehr Antikörper (entsprechend der grösseren Zahl mit starker Affinität ausgestatteter Receptoren) für den eigenen und homologe Stämme als für die heterologen z. B. Baku I enthalten war. Eine derartige quantitativ verschiedene Zusammensetzung des Serums musste dann auch in Bindungsversuchen zum Ausdruck kommen. Enthielt das Serum mehr Antikörper für avide Gruppen des Stammes 74 als für solche von B I, so musste das Serum nach der Absättigung mit B I gegen B I einen niederen Titer zeigen, als nach der Absättigung mit 74 gegen 74. Denn je geringer im Verhältniss zur zugesetzten Bakterienmenge die Quantität der Immunkörper ist, desto stärker sinkt der Titer des Serums durch die Absättigung. Es lägen dann dieselben Verhältnisse vor, wie wenn man zu abgestuften Serumverdünnungen gleiche Bakterienmengen setzt, wie Eingangs im Beispiel erläutert ist. Unsere Vermuthung bestätigte sich zunächst wenigstens für ein Serum. Aus dem Serum 89, das mit Cultur 74 hergestellt ist, nimmt thatsächlich der heterologe Stamm B I unter sonst ganz gliechen Versuchsbedingungen mehr Amboceptoren für sich heraus, als es Cultur 74 für sich selbst thut (vgl. Tabelle XVIII). Bei anderen Seris ist es bisher nicht gelungen, nachweisbare Differenzen zu erzielen. Im Allgemeinen haben daher Cholerasera, einerlei mit welchem Stamme sie hergestellt sind, eine verhältnissmässig gleichmässige innere Zusammensetzung. Das ist eine weitere Stütze für unsere Annahme, dass die einzelnen Receptoren der verschiedenen Choleraculturen identisch und in annähernd derselben Menge in den einzelnen Stämmen vorhanden sind. Im Sinne der Ehrlich'schen Theorie wäre aber zu erwarten, dass für die aviden Gruppen des Receptorenapparates mehr Antikörper im Thierkörper gebildet würden als für die mit schwachen Affinitäten ausgestatteten. Die Versuche mit unserem Serum 89, die nun folgen, beweisen thatsächlich, dass es Cholerasera giebt, in denen der individuell biologische Bau der zur Immunisirung benutzten Cultur auch im Serum in dieser Weise zum Ausdruck kommt.



Tabelle XVIII.

Baktericides Kaninchenserum 89 mit BI*v* bezw. 74*v* wie üblich abgesättigt und im Pfeiffer'schen Versuch gegen BI*v* bezw. 74*v* ausgewerthet.

a) Absättigung mit B I und Auswerthung gegen B I und 74.

Ausgewerthet	Verdünnungen des Centrifugenklars					
gegen	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000
B I	lebt	†	†	†	†	†
74	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	†

Controle mit nicht abgesättigtem Serum 1 : 2000 B I: lebt.

b) Absättigung mit 74*v* und Auswerthung gegen 74*v* und B I.

Ausgewerthet gegen	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000
74	lebt	lebt	lebt	†	†	
B I	lebt	lebt	lebt	†	†	

Controle mit nicht abgesättigtem Serum 1 : 4000 74: lebt

Nach den Bindungsversuchen mit diesem Serum (89) ist der Schluss nicht von der Hand zu weisen, dass es messbar mehr Antikörper für die Receptoren der Cultur 74 als der Cultur B I enthält.

War dieser Schluss richtig, so mussten bei sorgfältigem Austitriren des unabgesättigten Serums 89 gegen 74 und B I Unterschiede im baktericiden Titer zu Gunsten von Cultur 74 und der ihr homologen Stämme zu Tage treten (vgl. Tabelle XIX).

Tabelle XIX.

Werthbestimmung des Serums 89 gegenüber den Stämmen 74, BI, SIII.

	Verdünnungen des baktericiden Serums						
	1 : 1000	1 : 2000	1 : 3000	1 : 4000	1 : 6000	1 : 8000	1 : 10000
74	0	0	0	0	0	0	+
B I	0	0	+	+	+	+	+
S III	0	0	0	0	0	+	+

Die Tabelle zeigt, dass dies der Fall ist. Die zu diesem Versuche benutzten Culturen hatten damals alle die gleiche Virulenz $^1/_8$ Oese. Wir betonen das ausdrücklich, da vielfach in der Litteratur die Anschauung vertreten ist, dass mit steigender Virulenz einer Cultur auch ihre Resistenz gegen Bakteriolysine zunimmt. Dadurch eventuell bedingte Fehlerquellen sind also bei diesem Versuche vermieden. Er lehrt eindeutig, dass der baktericide Titer des Serums 89 4 Mal höher für 74 als für B I ist. Ein Agglutinationsversuch mit demselben Serum gab ein ganz entsprechendes Resultat (vgl. Tabelle XX).



Tabelle XX.

Agglutination mit Serum 89.

	Verdünnungen des Serums					
	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:1500	1:2000
74	+++	+++	+++	+++	±	–
B I	++	+	±	—	—	–
S III	+++	+++	+++	+++	+	–

Um alle Zufälligkeiten auszuschliessen, agglutinirten wir weiterhin mit Serum 89 eine Anzahl möglichst heterologer Choleraculturen mit dem Ergebniss, dass die quantitative Auswerthung dieselben Gruppen unter den Culturen erkennen liess, die wir bei den Bindungsversuchen gefunden hatten (vgl. Tabelle XXI).

Tabelle XXI.

Agglutination mit Serum 89.

	Verdünnungen des Serums					
	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:1500	1:2000
74	+++	+++	+++	++	+	–
S III	+++	+++	+++	++	+	–
G VI	+++	+++	+++	+++	+	±
B I	++	+	±	—	—	–
G IV	+++	++	+	—	—	-
Hahn	++	+	±	—	—	–
59	+++	+++	+++	+++	+	±
G I	+++	+++	+++	—	—	–

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass ein Theil der Choleraculturen mit dem Serum 89 verhältnissmässig schwer, ein anderer dagegen verhältnissmässig leicht zu agglutiniren ist. Da nun die „schwer agglutinablen“ Stämme ausnahmslos solche sind, deren Receptorenapparat nach den Bindungsversuchen von dem des Stammes 74, (der zur Immunisirung benutzt wurde,) in seinen Affinitätsverhältnissen verschieden ist, die „leicht agglutinablen“ andererseits dem Stamm 74 homologe Culturen sind, so ist damit bewiesen, dass die schwerere oder leichtere Beeinflussbarkeit von Choleraculturen durch ein agglutinirendes und baktericides Serum auf Differenzen in ihrem Receptorenapparat beruht. Bei anderen Bakterienarten, wie Typhus-, Dysenterie-, Colibacillen und anderen mehr sind ähnliche Beobachtungen schon mehrfach gemacht worden. Als Grund derartiger Unterschiede in der verschiedenen Beeinflussbarkeit der einzelnen Vertreter dieser Bakterienarten sind vielfach Differenzen im biologischen Bau in der Art angenommen



worden, dass die einzelnen Stämme derselben Art ausser einem gemeinschaftlichen Grundreceptor differente Partialreceptoren besässen. Nach unseren Erfahrungen beim Studium der Choleravibrionen ist eine derartige Annahme auch für die anderen Bakterienarten nicht unbedingt nothwendig; vielmehr lassen sich alle beobachteten Differenzen durch verschiedene Affinitätsverhältnisse bei an sich einheitlichem Receptorenapparat zwanglos erklären. Es soll damit natürlich nicht gesagt sein, dass bei anderen Bakterienarten die individuellen Differenzen nicht durch Ausbildung verschiedener Partialreceptoren bedingt sein könnten. Aber bewiesen scheint es uns noch nicht zu sein; denn alle Unterschiede zwischen Stämmen einer Art in der Beeinflussbarkeit durch specifische Sera lassen sich auch bei einheitlich gedachtem Receptorenapparat durch Affinitätsdifferenzen erklären. Bei Choleravibrionen im Besonderen ist dies die einzige Erklärung, die allen Thatsachen in gleicher Weise gerecht wird. Hier wird in vielen Fällen, wie in den oben mitgetheilten, die etwas schwerere oder leichtere Agglutinabilität lediglich auf Affinitätsunterschiede im Receptorenapparat der einzelnen Culturen zurückzuführen sein, zumal die baktericiden Versuche entsprechende Resultate gaben.

Bereits im Jahre 1896 machten Gruber und Durham[1] und fast gleichzeitig mit ihnen Pfeiffer und Kolle[2] die Beobachtung, dass ein bestimmtes Choleraserum nicht alle Cholerastämme ganz gleich beeinflusst. Die Autoren suchten sich damals ihre Versuchsresultate durch Unterschiede in der Virulenz zu erklären. Später jedoch hat Durham[3], gestützt auf Beobachtungen bei anderen Bakterienarten, die Ansicht ausgesprochen, dass der differente Bau des Receptorenapparates der Bakterien dieser Erscheinung zu Grunde liege. Auch Kolle, Gotschlich, Hetsch, Lentz und Otto[4] fanden geringe Unterschiede in der Agglutination der einzelnen Choleraculturen mit den verschiedenen Serumproben, wie das ein Studium ihrer umfassenden Versuchsreihen darthut. Sie geben ebenfalls der Ansicht Raum, dass die geringen Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der einzelnen Cholerastämme auf feine Differenzen in ihrem biologischen Bau zurückzuführen seien.

Auf einem anderen Wege ist neuerdings Pfeiffer[5] zur gleichen Annahme gelangt. Er unterwarf fünf Cholerastämme verschiedenster Virulenz der quantitativen Agglutinationsprobe mit Hunde-, Huhn-, Karpfen- und Kaninchenserum und zwar mit normalem und specifischem.

[1] A. a. O.
[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* März 1896.
[3] *Journal of experim. Med.* 1901.
[4] A. a. O.
[5] Koch's *Festschrift.*



Dabei stellten sich Unterschiede in der Agglutinabilität der einzelnen Culturen heraus, die Pfeiffer eine gewisse Differenzirung ihres Receptorenapparates annehmen lassen. Alle die genannten Autoren dachten sich die Unterschiede im Receptorenapparat der Choleravibrionen in der Weise, dass die einzelne Choleracultur neben vielen mit anderen Cholerastämmen gemeinschaftlichen Receptoren auch differente besässen. Dass diese Annahme unnöthig ist und sich vielmehr die geringen beobachteten Differenzen zwanglos durch Affinitätsunterschiede eines an sich bei allen Culturen gleichartigen Receptorenapparates erklären lassen, dafür sprechen unsere Versuche in deutlicher Weise. Im Folgenden soll diese Hypothese durch Mittheilung weiterer Versuche und theoretische Betrachtungen gestärkt werden.

V. Specificität des Choleravibrio.

Es ist schon Eingangs betont worden, dass die Unterschiede im Receptorenapparat der einzelnen Choleraculturen, wie sie bei Bindungsversuchen und in ganz geringem Grade zuweilen auch bei Agglutinations- und baktericiden Versuchen in Erscheinung treten, die Choleranatur der untersuchten Stämme nicht in Frage stellen. Vielmehr verlaufen die specifischen Immunitätsreactionen bei den Choleravibrionen im Allgemeinen ausserordentlich gleichmässig. Bei Agglutinations- und baktericiden Versuchen mit hochwerthigen Immunseris treten Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen keineswegs regelmässig zu Tage, und wenn sie vorhanden sind, erreichen sie stets nur ganz geringe Werthe. Die Beeinflussbarkeit choleraähnlicher Vibrionen durch Cholerasera steht dazu in scharfem Gegensatz. Hier sind die Unterschiede in der Beeinflussbarkeit ausserordentlich grosse. Choleraähnliche Vibrionen werden, wenn überhaupt, nur in ganz geringen Grenzen, die dicht an der für normale Sera feststehenden Grenzzone liegen, von Choleraserum mit beeinflusst. Umgekehrt ist mit derartigen Vibrionen hergestelltes Immunserum unwirksam gegenüber echten Koch'schen Vibrionen. In Bindungsversuchen absorbiren weder choleraähnliche Vibrionen Agglutinine und Immunkörper für echte Choleravibrionen, noch umgekehrt.

Die Kenntniss dieser Thatsachen verdanken wir den umfassenden Untersuchungen von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz[1], die später durch Bindungsversuche von Hetsch und Lentz[2] noch eine Erweiterung erfuhren. Bestätigungen dieser Untersuchungen brachten weiterhin die Arbeiten von Prausnitz[3] und von Crendiropoulo und

[1] *Diese Zeitschrift.*

[2] Koch's *Festschrift.*

[3] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1905.



Amos.[1] Auch unsere Untersuchungen haben neue Belege für die Specificität der Choleravibrionen erbracht, denn alle zu unseren Versuchen verwendeten Choleraculturen wurden von hochwerthigem Choleraserum annähernd in gleichem Maasse beeinflusst. Auch haben wir keine Choleracultur gefunden, die nicht aus jedem der untersuchten Sera für verschiedene echte Choleraculturen, und aus jedem Serum für sich selbst die Agglutinine und Bakteriolysine zu binden vermag. Die geringen Unterschiede in der Beeinflussbarkeit sind auf Affinitätsunterschiede zurückzuführen. Ein Parallelismus zwischen leichter Agglutinabilität und mangelhafter Virulenz konnte im Gegensatz zu Pfeiffer und Friedberger[2], Strong[3] und Anderen nicht constatirt werden, wie aus folgendem Beispiel hervorgeht: Das Serum II agglutinirt B I virulent bis zu einer Verdünnung von 1:15000, die avirulenten Stämme S VI und 19 nur bis 1:5000. Auch in diesem Beispiel ist die geringere Agglutinabilität der Stämme 19 und S VI durch Aviditätsunterschiede gegenüber dem Serum erzeugenden Stamm B I bedingt, wie ein Blick auf Taf. VI zeigt.

VI. Immunisirungsversuche.

Pfeiffer-Friedberger[4] und Strong[5] hatten gefunden, dass Virulenz, bindende und immunisirende bezw. Serum erzeugende Kraft bei Choleraculturen Hand in Hand ginge. Unsere Versuche hatten dagegen gezeigt, dass kein Parallelismus zwischen Virulenz und bindender Kraft besteht und dass die anscheinend quantitativen Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Cholerastämme auf qualitative Verschiedenheiten ihres Receptorenapparates zurückgeführt werden können. Zur weiteren Klärung der Frage stellten wir in Analogie mit Pfeiffer-Friedberger und Strong Thierversuche an und zwar immunisirten wir gleichschwere Kaninchen mit einer einmaligen kleinen Dosis bei 60° abgetödteter Choleracultur und prüften nach 10 Tagen den baktericiden und agglutinirenden Titer der Sera. Es waren dabei folgende Gesichtspunkte maassgebend:

1. Steht die bindende Kraft einer Choleracultur mit ihrem Vermögen ein baktericides Serum zu erzeugen im Zusammenhang? War das der Fall, so musste im Sinne der Ehrlich'schen Theorie eine Cultur, deren Receptoren sämmtlich eine grosse Affinität zeigten, ein Serum von höherem Titer erzeugen als eine andere, bei der nur ein Theil der Receptoren mit starker Avidität ausgestattet war.

[1] *Journal of Pathol. and Bacteriol.* 1904.
[2] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1902.
[3] A. a. O.
[4] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1902.
[5] A. a. O.



2. Steht die Virulenz einer Choleracultur mit ihrer Fähigkeit, ein baktericides Serum zu erzeugen in Zusammenhang?

3. Treten in einem Serum, das durch einmalige Injection einer kleinen Choleramenge hergestellt ist, Titerunterschiede bei Auswerthung gegen heterologe Choleraculturen zu Tage?

Friedberger[1] hatte angegeben und andere Autoren haben sich dem zum Theil angeschlossen, dass in der Regel eine einmalige intravenöse Injection von $^{1}/_{100}$ Oese bei 60° abgetödteter Choleracultur genügt, um ein baktericides Serum vom Titer 1:1000 und noch höher zu erlangen.

Wir immunisirten zunächst zwei gleichschwere Kaninchen in dieser Weise mit dem Stamme 74 mit dem Resultat, dass das Serum des einen nur einen baktericiden Titer von 1:400 erhielt. Das Serum des anderen Thieres schützte noch gerade in der Verdünnung 1:1000 gegen 1 Oese virulenter Cholera 74. Es gelingt also thatsächlich in einigen Fällen mit ganz kleinen Choleradosen ein baktericides Choleraserum vom Titer 1:1000 beim Kaninchen zu erhalten. Aber der Versuch versagt in einer verhältnissmässig grossen Anzahl der Fälle, wie die folgenden Versuche lehren.

Es wurden mehrere Kaninchen mit verschiedenen Cholerastämmen immunisirt und zwar erhielt jedes Thier $^{1}/_{10}$ Oese 1 Stunde bei 60° abgetödteter Choleracultur intravenös. Wir wählten diese höhere Dosis in der Erwartung, nun bessere Titer zu bekommen. Einen Theil unserer Versuchsprotokolle bringt Tabelle XXII.

Tabelle XXII.
Immunisirungsversuche.

1. Kaninchen	immunisirt	durch	Injection	von	$^{1}/_{10}$	Oese	S III abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1:500.
2.	„	„	„	„	$^{1}/_{10}$	„	74 abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1:2000.
3.	„	„	„	„	$^{1}/_{10}$	„	B I abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1:200.
4.	„	„	„	„	$^{1}/_{10}$	„	Pfeiffer abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1:1000.
5.	„	„	„	„	$^{1}/_{100}$	„	74 abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1:400.
6.	„	„	„	„	$^{1}/_{100}$	„	74 abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1:1000.

Die Tabelle zeigt, dass auch mit $^{1}/_{10}$ Oese nur in etwa der Hälfte der Fälle ein brauchbares Serum erzeugt wird. Derartige Unterschiede im Serumtiter wie die hier beobachteten, haben wir bei Kaninchen, die

[1] Leyden's *Festschrift*.

Friedberger und Moreschi heben neuerdings in einer während der Drucklegung dieser Arbeit erschienenen Veröffentlichung die Bedeutung der kleinen Immunisirungsdosen für die Differenzirung der Immunisationsfähigkeit verschiedener Cholera- und Typhusculturen hervor. (*Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXIX.)



eine einmalige grosse Choleradosis ($^1/_2$ bis 1 Cultur 1 Stunde bei 60° abgetödtet intraperitoneal) erhielten, nie gesehen. Es kommt bei der Immunisirung mit kleinen Dosen anscheinend ausserordentlich viel auf die Individualität des Serum spendenden Thieres an.

Wenn unsere Versuche auch nicht sehr zahlreich sind, so kann jedenfalls das mit Sicherheit daraus geschlossen werden, dass die Virulenz einer Choleracultur mit der Serum erzeugenden Kraft nichts zu thun hat. Denn ein mit dem avirulenten alten Laboratoriumsstamm „Pfeiffer" hergestelltes Serum hatte einen höheren Titer als die mit dem homologen hochvirulenten Passagestamm B I erzeugten. Wir kommen also bei Choleravibrionen zu denselben Resultaten wie Wassermann[1] bei Typhusbacillen. Eine Arbeit von Petterson[2] aus dem Pfeiffer'schen Institut über die Bindungsverhältnisse und Immunität auslösende Kraft von fünf Typhusstämmen ergiebt übrigens in den mitgetheilten Versuchsresultaten ähnliche Verhältnisse wie bei unseren Choleraseris. Der Titer der von Petterson mit kleinen Dosen hergestellten Sera ist sehr niedrig. Mit zwei avirulenten Stämmen konnte er bei dieser Vorbehandlung überhaupt keinen nennenswerthen Titer erhalten, mit einem der virulenten Stämme aber auch nicht. Also auch seine Versuche bestätigen die Unsicherheit der Methode, ob er gleich diesen Schluss selbst nicht zieht.

Da nach unseren Versuchen ein Parallelismus zwischen Virulenz, Bindungsvermögen und Serum erzeugender Kraft bei Choleravibrionen nicht besteht, erledigen sich die zahlreichen theoretischen Erklärungsversuche anderer Autoren über diesen Gegenstand von selbst.

Unsere Versuche gestatten weiterhin folgende Schlüsse:

1. Choleraculturen, die nur einen mit einseitigen Affinitäten ausgestatteten Receptorenapparat besitzen, liefern kein schwächeres Serum, als solche, die mehr avide Gruppen in ihrem Receptorenapparat aufweisen. So haben zwar zwei Sera, die mit B I hergestellt waren, nur den Titer 1:200, dagegen wirkte ein mit S III hergestelltes noch in der Verdünnung 1:500, und eins mit dem Stamme 74 noch bei 1:2000. Andererseits aber haben wir mit der Cultur Pfeiffer, die B I homolog ist, ein Serum vom Titer 1:1000 erzeugt. Also auch hier sind die Resultate ausserordentlich schwankend und gestatten keine ganz eindeutigen Schlussfolgerungen.

2. Ein Serum, das mit einer Cultur von einseitiger Affinität hergestellt ist, wirkt ebenso auf verschiedene (s. Tabelle) heterologe Choleraculturen, wie ein mit einem viele starke Affinitäten besitzenden Stamme erzeugtes, wie aus der Tabelle hervorgeht.

[1] Koch's *Festschrift.*

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905.



Tabelle XXIII.

Kaninchenserum 71, hergestellt durch intravenöse Injection von $^1/_{10}$ Oese Cultur Pfeiffer abgetödtet, ausgewerthet gegen die heterologen Stämme 74 und S III.

	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000
74	lebt	lebt	lebt	†
S III	„	„	„	†

3. Ein Titerunterschied beim Auswerthen gegen homologe und heterologe Culturen wurde bei den mit kleinen Dosen hergestellten Seris nur in einem Falle beobachtet. Der Titer war aber für die homologen Stämme nur um's Doppelte höher, als für die heterologen.

Tabelle XXIV.

Kaninchenserum 41, hergestellt durch einmalige intravenöse Injection von $^1/_{10}$ Oese Cultur 74 *v* abgetödtet, ausgewerthet gegen B I *v*, 74 *v*, S III *v*.

	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000
B I	lebt	lebt	†	†
74	„	„	lebt	†
S III	„	„	„	†

Soweit die mit kleinen Dosen erzielten baktericiden Sera auch agglutinirend wirkten, wurden sie zu entsprechenden Agglutinationsversuchen mit demselben Resultat verwandt.

Die Versuche mit der Immunisirung mit kleinen Dosen ergeben, dass die Höhe des Serumtiters je nach der Individualität des Thieres unter sonst gleichen Versuchsbedingungen starken Schwankungen ausgesetzt ist. Sera, die ausgesprochene Gruppenwirkung unter den Choleraculturen zeigten, konnten mit dieser Methode nicht erzielt werden.

C. Theoretischer Theil.

Mit den im letzten Abschnitt mitgetheilten Immunisirungsversuchen sind wir am Ende unserer experimentellen Untersuchungen angelangt. Die Resultate sind kurz folgende:

1. Choleravibrionen werden von agglutinirendem und baktericidem Choleraserum sämmtlich nahezu gleichmässig hoch beeinflusst. Die Unterschiede im Grade der Beeinflussbarkeit sind stets äusserst geringe, wie das Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz[1] zuerst nachgewiesen haben.

[1] A. a. O.

2. Choleraserum wirkt auf choleraähnliche Vibrionen entweder gar nicht oder nur in ganz starken Concentrationen (1:20 bis 1:50) ein und umgekehrt. Auch diese Thatsache ist eine volle Bestätigung der Angaben der genannten Autoren.

3. Bei Bindungsversuchen absorbiren sämmtliche Choleraculturen aus verschiedenen Cholerasera für sich selbst unter gleichen Versuchsbedingungen annähernd gleiche Mengen Antikörper. Dies Versuchsergebniss steht ebenfalls im besten Einklang mit der Einheitlichkeit des Receptorenapparates der Choleravibrionen, wie sie von den citirten Autoren proclamirt ist.

4. Bindungsversuche, die mit choleraähnlichen Vibrionen und Choleraserum angestellt wurden, ergaben in Bestätigung der Versuche von Hetsch und Lentz[1], dass choleraähnliche Vibrionen nicht im Stande sind, einem Choleraserum die für Choleravibrionen specifischen Agglutinine bezw. Amboceptoren zu entziehen.

5. Wird ein beliebiges, agglutinirendes Choleraserum mit einer bestimmten Choleracultur abgesättigt, so ist es nach erfolgter Absorption für den zur Absättigung benutzten Stamm und für eine Reihe anderer Choleraculturen nahezu wirkungslos geworden, agglutinirt aber andere, ebenfalls einwandsfrei echte Choleraculturen fast bis zur ursprünglichen Titergrenze weiter.

6. Bindungsversuche mit baktericidem Choleraserum geben ganz analoge Resultate. Auch hier bleiben nach der Absättigung mit einer bestimmten Choleracultur die baktericiden Amboceptoren für eine Anzahl anderer echter Choleraculturen im Serum zurück, während sie für den zur Absättigung benutzten Stamm und ihm homologe fast vollständig herausgenommen sind.

7. Vermag eine Choleracultur A aus einem agglutinirenden Choleraserum die Agglutinine für eine Choleracultur B nicht zu binden, so absorbirt sie auch aus einem baktericidem Serum nicht die Amboceptoren für Stamm B. Die Individualität einer bestimmten Choleracultur tritt also nach beiden Richtungen (Agglutination und Baktericidie) gleichmässig zu Tage.

8. Es giebt Choleraculturen, die aus einem beliebigen Choleraserum die Antikörper für alle anderen Stämme unserer Sammlung zu binden vermögen. Andererseits bleiben für sie selbst nach der Absättigung mit anderen Stämmen die Agglutinine und Amboceptoren im Serum erhalten.

[1] A. a. O.



9. Andere Choleraculturen nehmen nur für sich selbst und eine Minderzahl anderer Stämme die specifischen Antistoffe aus einem Serum heraus. Sie selbst aber werden von Serumproben, die der Absättigung mit anderen Culturen ausgesetzt waren, meist nicht mehr beeinflusst.

10. Einige Stämme geben bei Bindungsversuchen das zunächst paradox erscheinende Resultat, dass sie die Antikörper für eine andere Choleracultur nicht zu binden vermögen, z. B. B I nicht diejenigen für S VI, und dass umgekehrt S VI nicht im Stande ist, den Titer des Serums für B I in nennenswerther Weise herabzusetzen.

11. In anscheinend scharfem Gegensatz zu dieser Beobachtung steht die Thatsache, dass ein künstlich mit dem Cholerastamm B I hergestelltes Serum auch Cultur S VI fast bis zur Titergrenze beeinflusst.

12. Auch andere Culturen, die bei Bindungsversuchen grosse Differenzen zeigen, liefern Sera, die gegen derartige differente Stämme ebenso oder nahezu ebenso wirksam sind als gegen die eigenen.

13. Stets sind die Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der verschiedenen Cholerastämme durch hochwerthige Sera, wie schon unter 1. vermerkt ist, wenn sie überhaupt vorhanden sind, gering.

14. Mit der von Friedberger[1] empfohlenen Methode, Kaninchen mit ganz kleinen Dosen Choleracultur zu immunisiren, gelingt es nicht, Sera zu erzeugen, welche die bei den Bindungsversuchen erhobenen Unterschiede zwischen den einzelnen Choleraculturen im Titer gegen die verschiedenen Stämme zum Ausdruck bringen.

Es besteht also ein scharfer Gegensatz zwischen dem Ausfall der Bindungsversuche einerseits und dem Resultat der künstlichen Immunisirung und der Auswerthung der einzelnen Cholerastämme mit den verschiedensten Serumproben anderseits. Hier: grosse Einheitlichkeit in der Beeinflussbarkeit der Cholerastämme und in der Zusammensetzung der mit ihnen erzeugten Serumproben — dort: grosse Differenzen in der bindenden Kraft.

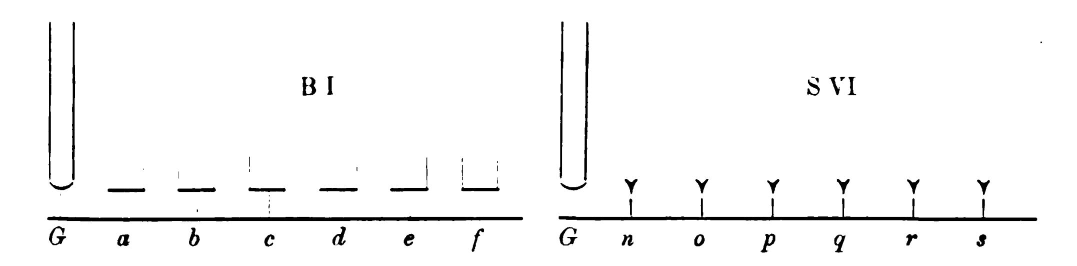
Bei dem Versuch, diesen Contrast zu erklären, stellen wir uns auf den Boden der Ehrlich'schen Theorie mit ihrer Annahme von Receptoren und auf sie specifisch einpassenden Antikörpern. Der Uebersichtlichkeit halber berücksichtigen wir im Folgenden hauptsächlich die Verhältnisse bei den Agglutininen. Die Versuche mit baktericiden Antikörpern haben, wie oben ausführlich dargethan, vollkommen congruente Resultate ergeben. Alles für die Agglutinine Gesagte gilt daher ohne Weiteres auch für die Bakteriolysine. Als Hauptbeispiel wählen wir die gegenseitigen Beziehungen der Choleraculturen B I und S VI. Denn diese Culturen

[1] A. a. O.



stehen sich nach dem Ausfall der Bindungsversuche am schroffsten gegenüber. Gelingt es für die anscheinend so paradoxen Verhältnisse bei diesen Stämmen eine ausreichende Erklärung zu finden, so ist damit zugleich das Problem bei den anderen Culturen, die sich nach dem Resultat der Bindungsversuche nicht so fernstehen, der Lösung zugeführt.

Wie bereits an anderer Stelle erwähnt wurde, suchten wir die Unterschiede, welche sich zwischen den einzelnen Choleraculturen unserer Sammlung bei Absättigungsversuchen ergaben, auf Differenzen in ihrem Receptorenapparat zurückzuführen. Diese Differenzen dachten wir uns in Uebereinstimmung mit den Vorstellungen, die sich andere Autoren, wie z. B. Wassermann[1] für die einschlägigen Verhältnisse bei anderen Bakterienarten gebildet hatten, zunächst in der Weise, dass alle Choleraculturen zwar einen gemeinsamen „Grundreceptor" besässen, daneben aber eine Anzahl differenter „Partialreceptoren" ausgebildet hätten. Der Receptorenapparat der Culturen B I und S VI würde sich dann etwa so darstellen lassen:



G wäre dann der gemeinschaftliche Grundreceptor, *a* bis *f* die Partialreceptoren von B I und *n* bis *s* die von S VI.

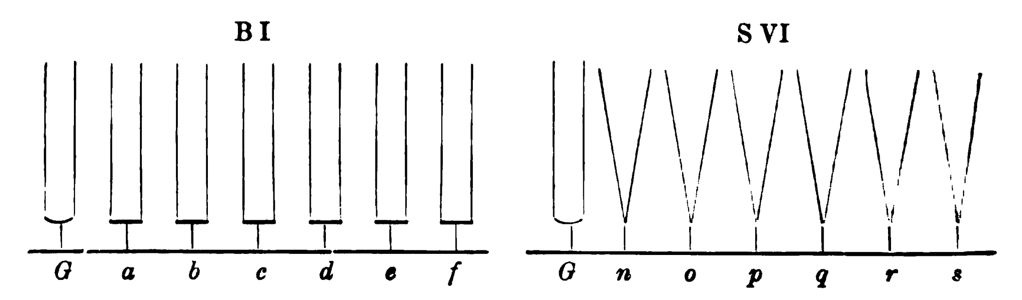
Mit dieser Annahme steht die Beobachtung im Einklang, dass aus einem beliebigen Choleraserum, das auf die Receptoren *a* bis *s* einpassende Agglutinine enthält, Cultur B I wohl im Stande ist, alle Agglutinine für sich selbst zu binden, aber nur sehr wenig für S VI und umgekehrt. Auffallend aber ist bereits bei dieser Auffassung vom Bau des Receptorensapparates der Choleravibrionen, daß der Grundreceptor bei den Bindungsversuchen eine so ausserordentlich geringe Rolle spielt. In dem Wort „Grundreceptor" liegt ja doch die Vorstellung ausgedrückt, dass er den wesentlichsten Theil des Receptorenapparates ausmacht und die Partialreceptoren nur eine untergeordnete Rolle spielen, etwa so wie es obenstehende Zeichnung veranschaulicht.

Bei derartigen Verhältnissen, wie sie das Schema wiedergiebt, wäre aber zu erwarten, dass bei Bindungsversuchen wohl Unterschiede zwischen

[1] A. a. O.



den Culturen B I und S VI zu Tage träten, dass sie aber bei Weitem nicht so bedeutend wären, wie wir sie bei unseren Absättigungsversuchen beobachtet haben. Denn die Vorstellung eines Grundreceptors und verschiedener Partialreceptoren ist untrennbar von der Annahme, dass der Grundreceptor der dominanteste unter den Receptoren ist. Ein Bindungsversuch, der diese Theorie von Grundreceptor und Partialreceptor stützen könnte, müsste vielmehr ungefähr so ausfallen: Aus einem Choleraserum vom Titer 1:10000 würde B I für sich selbst alle Agglutinine bis zur Verdünnung 1:500 herab absorbiren, der Titer des mit B I abgesättigten Serums für S VI aber würde mindestens etwa bis zur Verdünnung 1:1000 sinken. In Wirklichkeit aber bleiben so viel Agglutinine für den heterologen Stamm S VI in dem mit B I abgesättigten Serum zurück, dass noch die Verdünnung 1:5000 die deutliche makroskopisch sichtbare Agglutination auslöst. Das diesen Bindungsversuchen entsprechende Bild des Receptorenapparates kann bei der Annahme verschiedenartiger Partialreceptoren nur folgendes sein:



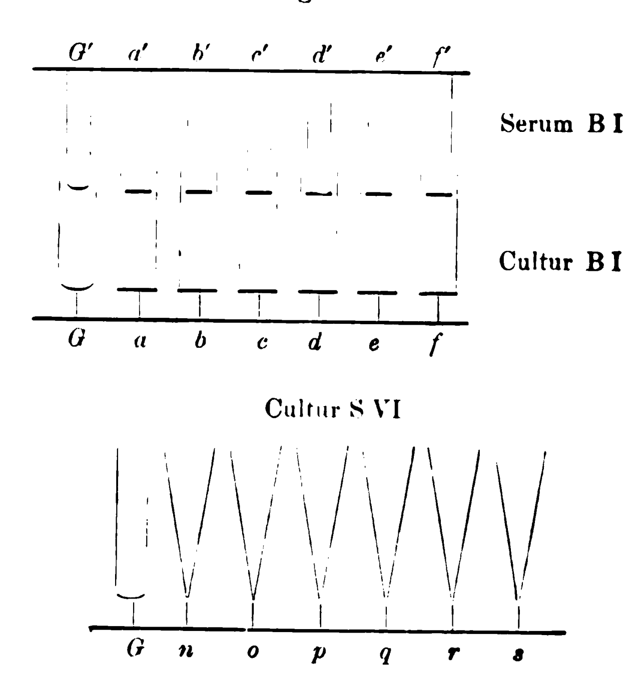
Nur so wäre es verständlich, dass B I aus einem Serum, das für alle gezeichneten Receptoren (*a* bis *s*) passende Agglutinine enthält, für sich selbst fast alle bindet, für S VI aber nahezu nichts herausnimmt und umgekehrt.

Wie aber ist mit diesem Bilde, das dem Resultat unserer Bindungsversuche entsprechen würde, die so ausserordentlich gleichmässige Beeinflussbarkeit der verschiedensten Choleraculturen durch beliebige Cholerasera zu erklären? Die umfassenden Versuchsreihen von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz[1] haben unzweideutig dargethan, dass Choleravibrionen von jedem Serum, ganz einerlei mit welchem Cholerastamm das Thier vorbehandelt war, annähernd gleichmässig beeinflusst werden. Die beobachteten Unterschiede in der Titerhöhe eines Choleraserums gegenüber verschiedenen Stämmen sind stets gering. Wir haben unter unseren zahlreichen Auswerthungen der verschiedensten Choleraculturen mit agglutinirenden und baktericiden Cholerasera verschiedenster

[1] A. a. O.



Provenienz keinen einzigen Versuch zu verzeichnen, der mit den Beobachtungen der genannten Autoren im Widerspruch stände. Vielmehr wurden auch bei unseren Untersuchungen, denen ausser den Culturen obiger Autoren auch 18 frische Choleraculturen verschiedenster Provenienz (Baku, Saratow, El Tor) unterworfen wurden, alle Cholerastämme, ganz gleichgültig wie sie sich bei Bindungsversuchen verhielten, von jedem der benutzten Sera in annähernd gleicher Weise beeinflusst.



War das Bild richtig, das wir uns — einen Grundreceptor und differente Partialreceptoren vorausgesetzt — nach dem Ausfall unserer Bindungsversuche von dem Bau des Receptorenapparates der Choleravibrionen machen mussten, so blieb es unverständlich, wie ein z. B. mit B I erzeugtes Serum Cultur S VI nahezu bis zur Titergrenze zu agglutiniren vermochte. Man hätte da viel grössere Unterschiede in der Titerhöhe erwarten müssen. Ein mit dem Stamm B I hergestelltes Serum hätte etwa obenstehende Zusammensetzung aufweisen müssen. Das Serum hätte aber, da es nur eine auf S VI passende Agglutiningruppe *G'* besass, für Cultur B I dagegen viele, Cultur S VI nur etwa bis zur Verdünnung 1:200 agglutiniren dürfen, niemals aber bis annähernd zur Titergrenze (1:5000), wie es der Versuch lehrte.

Immerhin war noch die Möglichkeit verhanden, dass diese paradoxe Erscheinung an der Art der Vorbehandlung des Serum spendenden Thieres lag. Nach den im Institut bei der Herstellung des zur bakteriologischen Choleradiagnose dienenden Serums (vgl. Anleitung für die bakteriologische

Choleradiagnose, Minist.-Erl. vom November 1902) gewonnenen Erfahrungen ist es am zweckmässigsten, um gute Cholerasera zu erzielen, die Versuchsthiere längere Zeit mit grossen Dosen abgetödteter Agarcultur vorzubehandeln. In dieser Weise haben wir, wie oben angegeben, unser BI-Pferdeserum gewonnen. Friedberger[1] hat nun mehrfach betont und auch Strong[2] hat sich dem angeschlossen, dass man bei der Vorbehandlung mit ganz kleinen Dosen am ehesten Differenzen im Serum erwarten kann, die genau dem individuellen Bau des zur Immunisirung benutzten Stammes entsprechen.

Unsere in dieser Richtung angestellten Versuche sind, wie oben mitgetheilt, gescheitert. Sera, die in der Friedberger'schen Weise gewonnen waren, beeinflussten auch die mit ganz differenten Partialreceptoren ausgestatteten Culturen (immer unter der Voraussetzung, dass die Annahme derartiger Partialreceptoren zu Recht besteht) im Pfeiffer'schen Versuch bis zur Titergrenze.

Eine weitere Schwierigkeit erhob sich, wenn man choleraähnliche Vibrionen zum Vergleich heranzog. Hier gaben Bindungsversuche dasselbe Resultat wie solche mit den Stämmen BI und SVI. Das heisst: ebensowenig wie BI es vermag, aus Choleraserum Agglutinine für SVI in nennenswerther Weise zu binden, vermögen dies die verschiedensten choleraähnlichen Vibrionen. Da sie aber zum Theil in geringem Grade von Choleraserum mitagglutinirt werden, ist im Sinne der Ehrlich'schen Auffassung anzunehmen, dass sie wenigstens einen Receptor mit echten Cholerculturen gemeinsam haben, wie es das Schema zeigt:

Choleracultur: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*
Choleraähnlicher Vibrio: *s, t, u, v, w, x, y, z.*

Daneben haben sie eine grosse Zahl anderer von denen der Cholera ganz differenter Receptoren ausgebildet. Mit dieser Annahme stehen, unsere Immunisirungsversuche mit echten Choleravibrionen einerseits, choleraähnlichen andererseits im besten Einklang. Wir verweisen hier wiederum auf die mehrfach citirten, im Institut ausgeführten Untersuchungen, die später von Meinicke[3] bestätigt und erweitert werden konnten. Niemals agglutinirt ein mit einem choleraähnlichen Vibrio hergestelltes Serum echte Koch'sche Vibrionen in nennenswerther Weise. Umgekehrt werden choleraähnliche Vibrionen von Cholerasera, wenn überhaupt, stets nur in ganz geringem Grade mitagglutinirt. Baktericide Versuche geben analoge Resultate. Wir sehen also hier, dass das Bild, das wir uns vom Receptorenapparat der Choleravibrionen einerseits, der choleraähnlichen

[1] A. a. O. [2] A. a. O.
[3] *Diese Zeitschrift.* Bd. L.

andererseits gemacht haben, mit keiner beobachteten Thatsache im Widerspruch steht, vielmehr alle zwanglos erklärt. Für die Beziehungen der Choleravibrionen zu den choleraähnlichen besteht die Hypothese eines gemeinschaftlichen und verschiedener differenter Receptoren zu Recht.

Die Annahme dagegen, dass die Unterschiede, die bei wechselseitigen Bindungsversuchen mit verschiedenen echten Choleraculturen zu Tage treten, ebenfalls auf differenten Partialreceptoren beruhte, liess sich nicht mit allen beobachteten Thatsachen in Einklang bringen, stiess vielmehr überall auf Widersprüche. Wir liessen daher diese Hypothese vollkommen fallen und stellten eine andere Theorie auf.

Den Weg dazu zeigten uns Beobachtungen, die der eine von uns (Meinicke) bei Untersuchungen über Typhusbacillen, die in Kürze von Kutscher, Lentz und Meinicke mitgetheilt werden, machte. Die betreffenden Versuche seien hier in den Grundzügen skizzirt.

Ein mit dem Typhusstamm 151 hergestelltes agglutinirendes Pferdeserum vom Titer 1:10000 agglutinirt den Typhusstamm 126 ebenfalls bis zur Titergrenze. Bei Bindungsversuchen nimmt Cultur 151 unter geeigneten Bedingungen für sich selbst soviel Agglutinine aus dem Serum heraus, dass das abcentrifugirte Serum nur noch in der Verdünnung 1:50 wirksam ist. Unter denselben Versuchsbedingungen lässt Cultur 126 für sich selbst noch Agglutinine in der Menge in dem decantirten Serum zurück, dass bei der nachträglichen Auswerthung gegen 126 noch in der Verdünnung 1:5000 positive Agglutination eintritt.

Im Sinne der Ehrlich'schen Theorie ist anzunehmen, dass in dem mit Cultur 151 hergestellten Serum sicher nicht mehr, höchstens ebensoviel, wenn nicht gar weniger Agglutinine für Cultur 126 enthalten sind als für 151 selbst. Die auffallende Thatsache, dass Cultur 126 aber unter sonst gleichen Bedingungen weit mehr Agglutinine für sich selbst in dem der Absättigung unterworfenen Serum zurücklässt, als 151 dies für sich thut, lässt daher nur den Schluss zu, dass ihre bindende Kraft für die Agglutinine dieses Serums geringer ist, als die des Stammes 151. Das könnte einfach an quantitativen Verhältnissen liegen. Cultur 126 könnte weniger Receptoren haben als 151, es wären daher entsprechend grössere Bakterienmengen nöthig, um ebensoviel Agglutinine zu binden, wie bei den Versuchen mit 151. Thatsächlich gelingt es, wenn man die Bakterienmenge beim Bindungsversuche im Verhältniss zur Serumconcentration etwa fünf Mal so gross nimmt wie beim entsprechenden Versuch mit 151, die Agglutinine für 126 soweit aus dem Serum zu entfernen, dass nur noch die Verdünnung 1:50 bezw. 1:100 gegen den eigenen Stamm (126) die positive Reaction giebt.



Dass die Verhältnisse aber nicht so einfach liegen, wie hier angenommen ist, zeigt eine weitere Beobachtung: Sättigt man das Serum mit Cultur 151 ab, so lassen sich die agglutinirten Bakterien mit Leichtigkeit abcentrifugiren; die Flüssigkeit wird, so lange noch geringe Mengen freien, ungebundenen Agglutinins in ihr enthalten sind, völlig klar. Erst wenn man Cultur im Ueberschuss zugiebt, bleibt die Flüssigkeit auch nach dem Centrifugiren noch trübe, da nun nicht mehr alle Bakterien agglutinirt werden und ausgeschleudert werden konnten. Jetzt enthält die decantirte getrübte Flüssigkeit aber auch keine Agglutinine für Cultur 151 mehr. Ganz anders liegen die Verhältnisse beim Stamm 126! Hier bleibt das centrifugirte Serum schon unter den Bedingungen, bei denen der Versuch mit 151 eine ganz klare bakterienfreie überstehende Flüssigkeit ergiebt, trübe. Mikroskopirt man dies getrübte abgesättigte Serum, so sieht man neben bewegungslosen auch noch bewegliche Typhusbacillen.

Werthet man dies getrübte Serum gegen die Cultur 126 aus, so findet man, dass sein Titer z. B. noch bis 1 : 5000 geht. Es bestehen also neben einander in dem Serum freie Agglutinine, anscheinend nicht mit Agglutinin beladene (bewegliche) und beladene (unbewegliche) Bakterien. Analoge Verhältnisse haben wir in der Chemie bei der Verbindung von Körpern mit schwachen Affinitäten. Auch hier bleiben neben dem Endproduct der Reaction (z. B. dem Salz) noch grössere Mengen der Reagentien (Säure und Base) frei in Lösung; es besteht zwischen Reagentien und Endproduct ein Gleichgewichtszustand. Eine Uebertragung dieser chemischen Anschauungen auf die Bindungsverhältnisse der Cultur 126 führt zu der Annahme, dass der Typhusstamm 126 eine verhältnissmässig sehr geringe Affinität zu den Agglutininen des untersuchten Typhusserums hat. Weitere Beobachtungen, die demnächst von Kutscher, Lentz und Meinicke zur Veröffentlichung gelangen werden, sind geeignet, diese Annahme verschiedener Affinitätsverhältnisse der einzelnen Typhusculturen zu den Agglutininen eines Typhusserums zu stützen.[1]

[1] Während der Correctur dieser Arbeit erhielten wir Kenntniss von Versuchen, über die E. Friedberger in Salkowski's *Festschrift* schon früher berichtet hat. Er fand bei Agglutinationsbindungsversuchen mit zwei Typhusstämmen Unterschiede in der bindenden Kraft dieser beiden Culturen, die ihn zu der Annahme führten, dass die beiden Typhusstämme zum Theil qualitativ verschiedene Receptorentypen besässen. Daneben liess er die Möglichkeit offen, dass bei einem schlecht bindenden Stamm die Receptoren „in eine Modification umgewandelt sind, in der zwar ihre Affinität zu den Agglutininen vollständig geschwunden ist, in der sie aber zur Bildung von Agglutinin im Thierkörper noch befähigt sind.“ Neuere Untersuchungen, die Friedberger in Gemeinschaft mit Moreschi in der *Berliner klin. Wochenschrift* 1905 mitgetheilt hat, haben ihn zu einer neuen Auffassung der einschlägigen Verhältnisse geführt. Er nimmt nun an, dass die Differenzen, welche zwischen der

Bei Choleravibrionen sind derartige Unterschiede in der Affinität der einzelnen Culturen zu den Agglutininen specifischer Sera nicht zu constatiren, wenn man das abgesättigte Serum gegen den zur Bindung benutzten Stamm selbst auswerthet. Da verhalten sich alle Choleraculturen wie der Typhusstamm 151, das heisst: sie absorbiren für sich selbst prompt alle Agglutinine. Unsere Bindungsversuche mit Choleraculturen hatten aber ergeben, dass deutliche Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Culturen zu Tage treten, wenn man das mit einem bestimmten Cholerastamm abgesättigte Serum gegen andere Cholerastämme auswerthet. Für die Erklärung dieser auffallenden Thatsache glauben wir jetzt Affinitätsunterschiede heranziehen zu dürfen, um so mehr als das Beispiel unserer Typhuscultur 126 uns gezeigt hat, dass paradox erscheinende Bindungsresultate hier nur in der Annahme schwacher Affinitäten zu den Agglutininen des Serums eine zureichende Erklärung finden. Bei den Versuchen mit dem Typhusstamm 126 ist nämlich die Erklärung der schwachen Bindungskraft durch die Hypothese von einem Grundreceptor und Partialreceptoren ausgeschlossen; denn das abgesättigte Serum wurde ja gegen den zur Bindung benutzten Stamm selbst ausgewerthet, der sich selbst natürlich in seinem Receptorenapparat völlig gleich ist. Hier konnten Unterschiede im Sinne differenter Partialreceptoren absolut keine Rolle spielen. Vielmehr hat der zur Bindung benutzte Stamm ganz genau dieselben Receptoren wie der, gegen den das abgesättigte Serum nachher ausgewerthet wurde. Denn es ist einfach dieselbe Cultur.

Die Versuchsreihen von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz[1], die mit den unsrigen, trotzdem die Culturen zum Theil mehrere Jahre lang fortgezüchtet und obgleich wir ganz andere Sera benutzten, sich deckten, hatten dargethan, dass alle Choleraculturen von Cholera-

agglutininbindenden und der im Thierkörper agglutininbildenden Fähigkeit der Typhusbacillen bestehen, nicht durch verschiedene Affinität an sich gleichartiger Receptoren bedingt sind, sondern dass agglutininbindende und -bildende Receptoren ganz verschiedene Dinge sind. Unsere eigenen Untersuchungen an Choleravibrionen, die unabhängig von den Friedberger'schen Versuchen mit Typhusbacillen angestellt wurden, scheinen uns zu beweisen, dass die Annahme verschiedener Aviditätsverhältnisse an sich gleichartiger Receptoren vollkommen zur Erklärung der bei Bindungsversuchen beobachteten grossen Differenzen ausreicht. In Kürze hat bereits der eine von uns (Meinicke) in der Choleranummer der *Zeitschrift für ärztl. Fortbildung*, October 1905, über unsere Versuche und die daraus abgeleiteten Theorieen referirt. Die bereits citirten Untersuchungen von Friedberger und Moreschi, welche erst nach diesem Referat veröffentlicht sind, scheinen nicht gegen die Richtigkeit unserer Annahmen zu sprechen.

[1] A. a. O.



serum verschiedenster Provenienz annähernd gleichmässig beeinflusst wurden. Die genannten Autoren hatten daraus den Schluss gezogen, dass der Receptorenapparat der Choleravibrionen ausserordentlich einheitlich gebaut sei. Unter dieser Voraussetzung würden z. B. die Culturen B I und S VI im Wesentlichen dieselben Receptoren haben, wie das die folgende Zeichnung veranschaulicht:

B I: *a, b, c, d, e, f, g,* *h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*

S VI: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m,* *n, o, p, q, r, s.*

(Die unterstrichenen Receptoren sollen starke Avidität besitzen.)

Aber diese Receptoren haben, wie unsere Bindungsversuche lehren, nicht alle dieselbe Affinität zu den einpassenden Agglutininen. Wir stellen uns vor, dass z. B. bei Cultur B I die Receptoren *a* bis *g* eine starke, *h* bis *s* dagegen nur eine sehr schwache Avidität zu den Agglutininen der untersuchten Sera haben. Umgekehrt sind die Receptoren *n* bis *s* des Stammes S VI mit starken Affinitäten ausgestattet, *a* bis *m* dagegen nicht.

Wie sich die anderen Culturen unserer Sammlung in diesem Sinne gruppiren lassen, ist bereits oben dargethan. Wir setzen der Uebersichtlichkeit halber die Schemata der Culturen 55 und 74 noch einmal hierher:

74: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n,* *o, p, q, r, s.*

55: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*

Unter der Voraussetzung, dass in den Serumproben, welche wir zu unseren Bindungsversuchen verwandten, Agglutinine für alle Receptoren (*a* bis *s*) der Choleravibrionen vorhanden sind und dass bei den verschiedenen Choleraculturen die Affinität der einzelnen Receptorengruppen zu den Agglutininen des Serums verschieden ist, erklären sich nun zwanglos die Resultate unserer Bindungsversuche: Es ist ohne Weiteres einleuchtend, warum Cultur B I nur wenig Agglutinin für S VI zu binden vermag und umgekehrt. Es erscheint nun aber auch die Thatsache verständlicher, dass trotz der grossen Verschiedenheiten, die sich bei Bindungsversuchen zwischen den Stämmen B I und S VI ergeben, doch beide Culturen von dem betreffenden Choleraserum in gleicher Weise beeinflusst werden. Cultur B I wird im Wesentlichen durch Besetzung seiner Gruppen *a* bis *g* agglutinirt, während die Receptoren *h* bis *s* nur wenig Agglutinin an sich zu fesseln vermögen. Umgekehrt verdankt S VI die prompte Agglutination seinen Receptoren *n* bis *s*, während die mit schwacher Avidität ausgestatteten *a* bis *m* nur wenig zur Agglutination beitragen.

Die Annahme gleicher Receptoren für alle Choleravibrionen, aber verschiedener Affinitätsverhältnisse der einzelnen Cul-



turen grenzt nun auch die Choleravibrionen scharf von den choleraähnlichen Vibrionen ab. Wir hatten oben gesehen, dass bei den choleraähnlichen Vibrionen das Bild eines mit den echten Koch'schen Vibrionen gemeinsamen und zahlreicher differenter Receptoren mit allen Versuchsresultaten im Einklang steht. Es seien zum Vergleich zwei Cholerastämme (B I und S VI) und ein choleraähnlicher Vibrio (77) hier skizzirt:

Cholera-	B I:	*a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*
stämme	S VI:	*a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*
Vibrio 77:		*s, t, u, v, w, x, y, z.*

Aus dem Schema wird ohne Weiteres klar, warum der choleraähnliche Vibrio aus Choleraserum Agglutinine für Choleravibrionen nicht in nennenswerther Weise zu binden vermag. Es scheint ferner verständlich, warum ein mit den Receptoren *a* bis *s* hergestelltes Choleraserum den choleraähnlichen Vibrio nur ganz minimal mitagglutinirt, und umgekehrt ein mit dem choleraähnlichen Vibrio (Receptor *s* bis *z*) erzeugtes Serum echte Choleravibrionen, wenn überhaupt, so stets nur in den stärksten Concentrationen beeinflusst. Es fehlen eben einem derartigen Serum die auf die Cholerareceptoren *a* bis *r* einpassenden Agglutinine.

Vor Allem aber wird der grosse Contrast, der zwischen den Resultaten wechselseitiger Bindungsversuche mit Choleravibrionen einerseits, den Ergebnissen der Auswerthung gegenüber verschiedenen Cholerasera und der Immunisirungsversuche andererseits besteht, einer Erklärung zugeführt. Besitzen alle Choleravibrionen im Wesentlichen die gleichen Receptoren, wie wir jetzt annehmen, so müssen auch alle Cholerasera, ganz einerlei, mit welchem Stamm sie hergestellt sind, ungefähr die gleiche innere Zusammensetzung zeigen. Und das ist thatsächlich, wie unsere ausführlich mitgetheilten Versuche beweisen, der Fall.

Immerhin können wir uns nicht verhehlen, dass auch bei der Annahme gleichartiger aber mit verschiedenen Affinitäten ausgestatteter Receptoren bei den Choleravibrionen die Erklärung unserer Versuchsresultate auf eine gewisse Schwierigkeit stösst. Im Sinne der Ehrlich'schen Theorie wäre nämlich zu erwarten, dass der mit starker Avidität begabte Receptor im Thierkörper mehr oder auch wieder avidere Antikörper auslöste, als die mit schwachen Affinitäten versehenen Receptoren. Mit anderen Worten: dass doch ein Serum, das z. B. mit Cultur 74 hergestellt ist, Stamm 74 selbst in messbar stärkerem Grade beeinflusst wie z. B. Cultur B I. Derartige theoretisch zu erwartende Unterschiede kommen thatsächlich vor, wie wir oben an dem Serum 89 ausführlich nachgewiesen haben. Aber die Differenzen im Titer gegenüber Stämmen, die andere Affinitäten besitzen, erreichen nur niedrige Werthe. Auch

mit der von Friedberger empfohlenen Methode der Immunisirung mit ganz kleinen Dosen konnten wir keine deutlichen Unterschiede im Titer der Sera gegenüber den verschiedenen Stämmen erzielen.

Für die Thatsache, dass die Aviditätsunterschiede der Cholerareceptoren in dem betreffenden Serum nur so unvollkommen zum Ausdruck gelangen, sollen im Folgenden noch einige Erklärungsversuche mitgetheilt werden.

Zunächst ist daran zu erinnern, dass wir nicht berechtigt sind, ohne Weiteres von Reagensglasversuchen Schlüsse auf die Verhältnisse im Thierkörper zu ziehen. Mit der Feststellung, dass gewisse Receptorengruppen einer Choleracultur im Reagensglas nur wenig Antikörper zu binden vermögen, ist noch nicht gesagt, dass diese Gruppen nun auch zu den Antikörper liefernden Bestandtheilen des Thierkörpers eine sehr schwache Affinität besitzen müssten und dementsprechend nur zur Bildung von wenig Antikörpern für diese Receptorengruppen anregen würden.

Es ist ferner nicht zu vergessen, dass Bindungskraft und Agglutinabilität bezw. Beeinflussung im Pfeiffer'schen Versuch doch keineswegs identische Begriffe sind. Man kann daher nicht erwarten, dass Bindungsversuche in absoluter Congruenz mit den Resultaten der Auswerthung gegen agglutinirende und bactericide Sera stehen müssen. Wohl stellen wir uns gestützt auf die Ehrlich'sche Theorie zur Zeit vor, dass specifische Beeinflussung ohne Bindung nicht eintritt; im Uebrigen sind aber beide Vorgänge doch ziemlich unabhängig von einander.

Durch die Untersuchungen von Eisenberg und Volk[1] wissen wir, dass die agglutinable Substanz eine haptophore und eine agglutinophore Gruppe besitzt. Die haptophore Gruppe ist im Allgemeinen stabiler als die agglutinophore. So kann man durch Erhitzen, Ansäuren, Salzentziehung und anderes mehr die agglutinophore Gruppe zerstören; es tritt daher keine Agglutination mehr ein. Trotzdem haben die Bakterien ihre bindende Fähigkeit erhalten: sie absorbieren aus dem Serum die Antikörper. Schon verhältnissmässig geringfügige Umstände, wie Unterschiede in der Beschaffenheit des Nährbodens, beeinflussen die Agglutinirbarkeit von Bakterien, z. B. von Typhusbacillen nicht selten, während die bindende Kraft dieselbe bleibt. Ausführliche Untersuchungen über diesen Gegenstand hat Kirstein[2] angestellt. Analoge Beobachtungen hat wohl Jeder, der Gelegenheit hatte, zahlreiche Agglutinationsversuche auszuführen, gemacht.

Alle die skizzirten Fälle haben das Gemeinsame, dass trotz erhaltener Bindungskraft die Agglutinabilität mehr oder minder gehemmt ist, dass also trotz reichlicher Absorption von Agglutininen keine Agglutination eintritt. Für unseren Fall haben aber gerade entgegengesetzte Beobachtungen

[1] A. a. O.

[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XLVI.



Interesse. Denn der Vergleich unserer Bindungsversuche mit den Agglutinationsresultaten und den Ergebnissen der Pfeiffer'schen Versuche nöthigt zu der Annahme, dass Choleravibrionen, auch wenn sie nur verhältnismässig wenig avide Receptoren besitzen und dementsprechend auch nur geringe Mengen Antistoffe zu binden vermögen, doch die deutliche specifische Reaction geben.

Hierher gehört ein Versuch, den Scheller[1] beschrieben hat. Er erhitzte Typhusbacillen auf 60° und machte mit diesen und zur Controle mit lebenden, nicht erhitzten Typhusbacillen, Agglutinations- und Bindungsversuche. Es ergab sich, dass die lebenden Typhusbacillen unter gleichen Versuchsbedingungen weniger Agglutinin zu binden vermochten als die bei 60° abgetödteten. Andererseits aber wurden die erhitzten Bakterien weit schlechter agglutinirt. Die lebenden Typhusbacillen zeigen also die sichtbare Reaction (Agglutination) viel deutlicher als die erhitzten, haben aber weniger Agglutinin gebunden. Es tritt also ein ähnliches Missverhältniss zwischen Agglutinabilität und gebundener Agglutininmenge zu Tage, wie in unseren Versuchen mit Choleravibrionen. Einen Hauptgrund für dieses Missverhältniss erblicken wir in der ausserordentlich leichten Beeinflussbarkeit der Choleravibrionen durch specifische Sera, einer Beeinflussbarkeit, wie sie anderen Bakterienarten z. B. Typhusbacillen nicht eigen ist.

Die leichte Reaction auf specifische Antistoffe findet nicht nur in der guten Agglutinabilität, sondern auch in der ebenso prompt eintretenden Bakteriolyse ihren Ausdruck. Zum Vergleich soll im Folgenden immer der Typhusbacillus herangezogen werden, weil bei ihm die entsprechenden Verhältnisse am genauesten studirt sind.

Zunächst ist es eine wohl allen Bakteriologen geläufige Thatsache, dass die Agglutinabilität der Choleravibrionen weit weniger von äusseren Umständen, wie Schwankungen im Nährboden u. s. w., beeinflusst wird, als die der Typhusbacillen. Die Agglutination der Choleravibrionen verläuft also gleichmässiger; sie verläuft aber unter sonst gleichen Bedingungen auch schneller und deutlicher als die der Typhusbacillen. In den höheren Verdünnungen giebt die Agglutination der Typhusbacillen nicht mehr so klare Bilder wie die der Choleravibrionen. Auch ist die der Serumconcentration entsprechende Scala im Grade der Agglutination dort nicht so schön ausgeprägt. Eine Beobachtung von Eisenberg und Volk[2], die nachher mehrfach, so in neuester Zeit von Porges[3] bestätigt wurde, lässt sich im nämlichen Sinne verwerthen. Setzt man Typhusbacillen der

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI.
[2] A. a. O.
[3] *Zeitschrift für experim. Pathologie und Therapie.* I. 3.



Erhitzung auf verschiedene Temperaturen aus, so verlieren sie verhältnissmässig schnell ihre Agglutinabilität; die Agglutinabilität der Choleravibrionen bleibt dagegen unter denselben Bedingungen noch gut erhalten. Auch die Bakteriolyse verläuft bei den Choleravibrionen prompter als bei den Typhusbacillen. Hier ist das Phänomen in der Meerschweinchenbauchhöhle manchmal erst in einigen Stunden abgelaufen, beim Choleravibrio dagegen ist das Zerfallen in Granula meist schon nach einer halben Stunde ausgeprägt und im Verlaufe einer Stunde beendet. Dass schon geringe Mengen Immunkörper genügen, die Bakteriolyse bei Cholera einzuleiten, zeigen ferner die Versuche von Pfeiffer und Friedberger.[1] Sie beluden Choleravibrionen mit geringen Mengen Amboceptoren und spritzen die sorgfältig gewaschenen Bakterien zugleich mit 1 Oese virulenter Cultur in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens ein. Die dort frei werdenden Bakteriolysine genügten, um die Infection zu paralysiren. Frische rohe Kuhmilch, die unter aseptischen Cautelen aufgefangen worden ist, wirkt baktericid auf Choleravibrionen, nicht aber auf Typhus- und Colibacillen und andere Bakterien dieser Gruppe, wie Kolle, Fried[…] Kutscher und Meinicke[2] im Gegensatz zu v. Behring[3] feststellen konnten.

Besondere Beachtung verdienen in diesem Zusammenhange Versuche von Bail[4], die schon zum Theil Bekanntes bestätigen, zum Theil Neues bringen. Bail unterzieht in seiner neuesten Publication die Bedeutung der Bakteriolyse für die Immunität einer ausserordentlich scharfen Kritik. „Die keimtödtende Eigenschaft der Körperflüssigkeiten ist im Grunde werthlos für Erklärungsversuche der Immunität.“ Man wird bei diesem Standpunkt erwarten können, dass er alles Material, was irgendwie gegen die Bakteriolyse sprechen kann, anführt. Aber auch er kann sich der Thatsache nicht verschliessen, dass die Choleravibrionen dem Einfluss der baktericiden Körpersäfte im Organismus ausserordentlich zugänglich sind. „Diese (gemeint sind die keimtödtenden Eigenschaften der Körperflüssigkeiten) finden hier das Gebiet ihrer Wirksamkeit, zugleich aber auch die Grenze dieses Gebietes (S. 310).“

Es seien hier einige seiner Versuche angeführt, da sie gerade den scharfen Gegensatz im Verhalten der Choleravibrionen zum Typhusbacillus gut illustriren.

1. Spritzt man einem normalen Kaninchen Typhusbacillen in die Blutbahn, so verschwinden sie zwar schnell aus dem Blut, halten sich

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901.

[2] *Klin. Jahrbuch.* Bd. XIII.

[3] *Therapie der Gegenwart.* 1904. — *Beiträge zur experim. Therapie.* H[…]

[4] *Archiv für Hygiene.* Bd. LII.

aber sehr lange in den Organen; in einem specifisch vorbehandelten Thiere halten sie sich ebenso lange wie im normalen — Choleravibrionen dagegen verschwinden, auch wenn sie in massiven Dosen eingespritzt werden, schnell aus dem Organismus, und zwar schneller aus einem gegen Cholera immunisirten als aus einem normalen.

2. Zusatz von Körperzellen hemmt im Reagensglas die Bakteriolyse der Typhusbacillen durch specifisches Serum stark, nicht aber die der Choleravibrionen.

3. Erzeugt man im Meerschweinchenperitoneum durch Aleuronat ein zellreiches Exsudat und spritzt dann Typhusbacillen ein, so wird der grösste Theil der Bakterien von Zellen aufgenommen und dort zerstört, während die Granulabildung in der freien Flüssigkeit ganz zurücktritt. Bei Choleravibrionen bleibt die Bakteriolyse bei gleicher Versuchsanordnung ausserhalb der Zellen beträchtlich.

4. Sogenannte Exsudatbakterien sind inagglutinabel und der Bakteriolyse unzugänglich. Das gilt aber nur für Typhusbacillen, nicht für Choleravibrionen.

5. Agressinzusatz hebt bei Typhusbacillen den Einfluss des specifischen baktericiden Immunserums auf, bei Choleravibrionen nicht.

Aus den mitgetheilten Versuchen Bails[1], die um so mehr Beachtung verdienen, als sie von einem Gegner der Bakteriolyse ausgehen, geht unzweideutig hervor, dass Choleravibrionen dem Einfluss baktericider Substanzen in viel höherem Grade zugänglich sind als z. B. Typhusbacillen.

Mit dieser höheren, sagen wir Affinität zu Agglutinin und Bakteriolysin stimmt im Sinne der Ehrlich'schen Theorie die Thatsache überein, dass man mit Choleravibrionen leichter hochwerthige Immunsera an Versuchsthieren herstellen kann als mit Typhusbacillen. Es mag so auch verständlich erscheinen, dass Unterschiede in der Avidität der Receptoren bei den verschiedenen Choleraculturen in dem betreffenden Serum nicht scharf zum Ausdruck kommen. Auch die mit schwachen Affinitäten versehenen Receptoren regen starke Antikörperbildung an, so dass das Serum, einerlei mit welcher Cultur es hergestellt ist, eine ziemlich gleichmässige Zusammensetzung hat.

Aus dem Zusammenwirken der beiden Factoren: reichliche Bildung von Antikörpern gegen die mit verschiedenster Avidität ausgestatteten Receptoren der Choleravibrionen einerseits — leichte Beeinflussbarkeit durch geringe Antikörpermengen andererseits, erklären wir uns die geringen Unterschiede, die bei der Agglutination und bei baktericiden Versuchen mit Choleravibrionen zwischen den einzelnen Stämmen und Serumproben im Gegensatz zum Resultat der Bindungsversuche zu Tage treten. Die

[1] A. a. O.



Unterschiede im Receptorenapparat von Choleravibrionen, wie sie durch Bindungsversuche aufgedeckt werden konnten, bleiben bei der Auswerthung durch agglutinirende oder baktericide Cholerasera aus den angeführten Gründen oft verborgen.

Dass sie nicht in allen Fällen verdeckt bleiben, wurde schon erwähnt. Auch bei Choleravibrionen wurden ja schon geringe Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der einzelnen Stämme beobachtet. Wir erinnern nur an die Arbeiten von Gruber und Durham[1], Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz[2], Pfeiffer[3] und unsere eigenen oben mitgetheilten Versuche. In unseren Fällen konnten die Unterschiede auf Differenzen in den Affinitätsverhältnissen der einzelnen Culturen zurückgeführt werden. Immer aber sind die Unterschiede im Grade der Beeinflussbarkeit sehr gering.

Im Gegensatz dazu verhalten sich verschiedene Typhusculturen zum Theil recht different gegenüber agglutinirenden und baktericiden Typhusseris. Die Unterschiede im Receptorenapparat treten hier schon bei der Auswerthung gegen specifische Sera deutlich zu Tage und werden durch die Bindungsversuche lediglich bestätigt, wie das die Untersuchungen von Wassermann[4], Cole[5], Walker[6], Falta und Noeggerath[7] darthun. Die von diesen Autoren gemachten Beobachtungen stehen mit der schwereren Beeinflussbarkeit der Typhusbacillen durch Immunsera in vollem Einklang.

Noch weniger leicht wie die Typhusbacillen sind Coli- und Dysenteriebakterien der Agglutination und Bakteriolyse zugänglich. Dementsprechend treten die Unterschiede im Receptorenapparat dieser Bakterienarten bei der Agglutination und im Pfeiffer'schen Versuche noch markanter hervor, wie beim Typhusbacillus. Beim Bacterium coli haben Wassermann[4], Totsuka[8], Rothberger[9] und Radcziewsky[10], bei Dysenteriebakterien Shiga[11], Eisenberg[12] und Hiss[13] diese Verhältnisse studirt.

[1] A. a. O. [2] A. a. O. [3] A. a. O.

[4] Koch's *Festschrift*. — *Centralblatt für Bakteriologie*. Ref.

[5] *Diese Zeitschrift*. Bd. XLVI.

[6] *Journal of Pathol. and Bacteriol.* Ref. *Centralblatt f. Bakteriol.* Bd. XXXI.

[7] *Deutsches Archiv für klin. Medicin*. 1905.

[8] *Diese Zeitschrift*. Bd. XLV.

[9] *Ebenda* Bd. XXXIV.

[10] *Ebenda*. Bd. XXXIV.

[11] *Ebenda*. Bd. XLI.

[12] *Wiener klin. Wochenschrift*. 1904.

[13] *The Journ. of Med. Research*. Vol. XIII. 1.



Aus den Versuchen aller der genannten Autoren ergiebt sich, dass bei Typhus-, Coli- und Dysenteriebacillen die Differenzen im Receptorenapparat der einzelnen Culturen schon bei der Auswerthung gegen specifische agglutinirende und baktericide Sera deutlich in Erscheinung treten. Bindungsversuche soweit sie gemacht wurden, bestätigten hier lediglich diesen Befund. Bei Choleravibrionen dagegen bleiben die Differenzen im Bau der einzelnen Stämme bei der Agglutination und bei baktericiden Versuchen im Allgemeinen verdeckt und treten erst bei Bindungsversuchen zu Tage.

Wir sind am Ende unserer theoretischen Erörterungen angelangt. Sie sollten zeigen, dass die Ansicht, welche wir uns vom Receptorenapparat der Choleravibrionen gebildet haben, mit allen Beobachtungen, die bisher über die Immunitätsreactionen der Koch'schen Vibrionen gemacht wurden, im Einklang steht. Die Annahme gleichartiger aber mit verschiedenen Aviditäten ausgestatteter Receptoren für alle Choleraculturen erscheint daher nach dem heutigen Stande des Wissens am besten fundirt. Wir glaubten etwas ausführlich werden zu müssen, da einer zureichenden Erklärung für die von uns gemachten Beobachtungen mancherlei Schwierigkeiten entgegenstanden und andererseits die bei Choleravibrionen aufgedeckten Verhältnisse bis zu einem gewissen Grade eine Uebertragung auf andere Bakterienarten gestatten. Veranlasst wurden die eingehenden Betrachtungen durch den schroffen Gegensatz, in den sich die Resultate von Bindungsversuchen mit Choleravibrionen zu dem bisher beobachteten ausserordentlich einheitlichen Verlauf ihrer Immunitätsreactionen stellten. Es seien daher noch einige Bemerkungen über den Werth von Bindungsversuchen für die Bakteriendifferenzirung, speciell für die Choleradiagnose, angefügt.

Im Allgemeinen wird man Bindungsversuche bei der Choleradiagnose ganz entbehren können. Die Immunitätsreactionen verlaufen bei Choleravibrionen so streng specifisch, dass eine Abtrennung der echten Koch'schen von choleraähnlichen Vibrionen bisher stets mit Leichtigkeit gelungen ist. Wir verweisen in diesem Sinne nur auf die umfassenden Untersuchungen, die Kolle und Gotschlich[1] bei der ägyptischen Epidemie im Jahre 1902 angestellt haben. Sie haben unzweideutig dargethan, dass im Besonderen der Agglutinationsprobe mit hochwerthigem Serum eine ausschlaggebende Bedeutung für die Choleradiagnose zukommt. Will man aber bei fraglichen oder aus einem bestimmten Grunde besonders interessanten Culturen Bindungsversuche mit in den Kreis der Untersuchungen ziehen, so ist bei der Beurtheilung der Resultate grösste

[1] A. a. O.



Vorsicht geboten. Vor Allem darf man aus einem negativ ausgefallenen Bindungsversuch — wenn also das mit der fraglichen Cultur abgesättigte Serum nicht an Titer gegenüber echten Choleraculturen eingebüsst hat — niemals den Schluss ziehen, die fragliche Cultur sei keine Choleracultur. Möglich ist es natürlich, dass es sich in diesem Falle um einen choleraähnlichen Vibrio handelt. Ebenso gut aber besteht die Möglichkeit, dass man es mit einem echten Choleravibrio zu thun hat, der nur zufällig andere Affinitätsverhältnisse aufweist als die Controlecultur. Wie sehr man Täuschungen bei Bindungsversuchen ausgesetzt sein kann, möge folgendes Beispiel lehren: Die Cultur Hahn ist entschieden etwas weniger leicht agglutinabel als die anderen Culturen unserer Sammlung; man könnte sie daher als eine fragliche Choleracultur bezeichnen. Zur Sicherstellung der Diagnose macht man nun Bindungsversuche und werthet das abgesättigte Serum nicht nur gegen einen, sondern, um ganz sicher zu gehen, gegen zwanzig echte Choleraculturen aus. Nimmt man zu diesen Versuchen nun zufällig Culturen aus den Gruppen 19, 74 oder 55, so wird man niemals eine Abnahme des Titers durch die Bindung mit der fraglichen Cultur constatiren können. Man könnte daher leicht versucht sein, den Stamm Hahn nicht für eine echte Choleracultur zu halten und würde damit eine Fehldiagnose stellen. Wir halten es für ungleich sicherer, mit einer fraglichen Cultur (derartige Culturen sind übrigens grosse Seltenheiten) ein künstliches Immunserum herzustellen und dies gegen echte Choleravibrionen auszuwerthen. In unserem Beispiel würde dadurch Cultur Hahn sofort als echte Choleracultur unzweideutig identificirt sein.

Ob bei anderen Bakterienarten Bindungsversuche uns in der Präcision der Diagnose weiter bringen als Agglutinations- und bactericide Versuche, wie dies Wassermann[1] angiebt, darüber fehlen uns zur Zeit noch ausgedehntere Erfahrungen. Nach dem oben skizzirten Versuch mit den beiden Typhusculturen 126 und 151 scheinen aber wenigstens bei Typhusbacillen die Verhältnisse noch complicirter zu liegen als bei Choleravibrionen. Auch dem Castellani'schen Versuch wird man mit Rücksicht auf die bei Choleravibrionen erhobenen Befunde nicht mehr volle Beweiskraft zuerkennen können.

[1] A. a. O.

Schlusssätze.

1. Macht man Bindungsversuche mit Choleravibrionen und werthet das mit ihnen abgesättigte Choleraserum in Agglutinations- oder baktericiden Versuchen gegen verschiedene Cholerastämme aus, so zeigen sich zwischen den einzelnen Culturen deutliche Differenzen.

2. Sämmtliche Choleraculturen werden von den nicht abgesättigten hochwerthigen bactericiden und agglutinirenden Cholerasera annähernd gleich hoch beeinflusst. Dem Verhalten bei den Bindungsversuchen entsprechende Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der einzelnen Stämme werden hier nicht deutlich beobachtet. Verschiedene Sera, auch solche die mit Culturen hergestellt sind, die sich im Bindungsversuch sehr different verhalten haben, zeigen beim Austitriren gegen die einzelnen Stämme keine deutlichen Unterschiede.

3. Die Annahme eines allen Choleraculturen gemeinschaftlichen Grundreceptors und verschiedener differenter Partialreceptoren vermag diesen Contrast zwischen dem Resultat der Bindungsversuche einerseits und dem Ausfall der Serumauswerthung andererseits nicht zu erklären.

4. Die Theorie dagegen, dass alle Choleraculturen dieselben Receptoren in ungefähr gleichem Verhältniss besitzen, dass aber die Avidität der einzelnen Receptoren zu den Antistoffen des Choleraserums bei den verschiedenen Culturen verschieden ist, steht mit allen Versuchsresultaten im Einklang und erklärt sie zwanglos.

5. Choleraähnliche Vibrionen werden von baktericiden und agglutinirenden Cholerasera, wenn überhaupt, nur in ganz geringem Grade beeinflusst und umgekehrt.

6. Choleraähnliche Vibrionen sind nicht im Stande, aus beliebigem Choleraserum die für echte Koch'sche Vibrionen spezifischen Antikörper zu binden.

7. Die Receptoren choleraähnlicher Vibrionen sind von denen echter Choleravibrionen ganz verschieden. Choleraähnliche Vibrionen haben, wenn überhaupt, nur einige wenige Receptoren mit Choleravibrionen gemeinsam.

8. Der Receptorenapparat der Choleravibrionen ist bei allen Culturen gleichartig und gegenüber choleraähnlichen Vibrionen streng specifisch gebaut.



9. Virulenz einerseits, bindende und immunisirende Kraft andererseits stehen bei Choleraculturen in keinerlei Zusammenhang.

10. Für die praktische Choleradiagnose ist die Auswerthung verdächtiger Culturen mit hochwerthigen Choleraimmunsera das wichtigste Differenzirungsmittel. Im Besonderen kommt hier die Agglutinationsprobe in Betracht. Bindungsversuche sind für die praktische Choleradiagnose werthlos. Vielmehr ist es bei der Identificirung unsicherer Culturen rationell, mit ihnen künstliche Immunsera herzustellen und diese gegen verschiedene echte Choleraculturen auszuwerthen.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Färbung und Theilung bei Spirochaeten.

Von

Prof. Dr. **Zettnow**.

(Hierzu Taf. VII.)

Unter den Bakterien haben die Spirochaeten von jeher eine besondere Stellung eingenommen; einmal weil es bei keiner Art gelungen ist, sie zu züchten und zweitens weil ihre Enden sich zuspitzen; eine Eigenthümlichkeit, welche bei keiner anderen Bakterienart sich wieder findet. Seitdem die Uebertragung pathogener Arten dieser Gruppe durch Insecten festgestellt ist, haben sie erhöhtes Interesse für uns gewonnen und ist ihre Zugehörigkeit zu den Spaltpilzen angezweifelt worden; hauptsächlich von Schaudinn. In seiner Arbeit (1) „Generations- und Wirthswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete" giebt er auf Seite 431 eine Anzahl von Figuren, welche verschiedene Stadien der indifferenten Spirochaeten aus dem Körper einer Mücke darstellen, nachdem sie Blut einer Eule gesaugt hat, in welchem sich grosse, Trypanosomen ähnliche Parasiten, Leukocytozoon Danilewski auch Spirochaete Ziemanni genannt, befinden. Im Anschluss an die Beschreibung dieser Figuren sagt er auf Seite 432: „Hier sei gleich erwähnt, dass ich zum Vergleich auch die Spirochaete Obermeieri und die Sacharoff'sche Gänsespirochaete untersucht habe und dass ich feststellen konnte, dass beide Formen in den Grundzügen ihrer Morphologie (Kernverhältnisse, Geisselapparat u. s. w.) vollkommen mit der Spirochaete Ziemanni übereinstimmen." Etwas abgeändert hat er seine Ansicht in jüngster Zeit, indem er (2) sagt, dass der von ihm als Spirochaete Ziemanni bezeichnete Organismus nur in einem kurzen

Entwickelungszustande Spirochaetengestalt besitzt, und dass er nur phylogenetische Beziehungen andeutet.

Es ist aus diesen Worten nicht klar ersichtlich, ob hierdurch auch die oben angeführten Angaben über die Morphologie der Recurrens- und Gänsespirochaeten zurückgezogen werden.

Da ich bald nach Veröffentlichung der ersten Arbeit zu verschiedenen Malen, jedoch stets mit negativem Erfolge versucht hatte, Kern, Blepharoplast und Geisselapparat bei Rinder- und Hühnerspirochaeten durch Romanowski-Färbung nachzuweisen, so habe ich auf Anregung von Herrn Geheimrat R. Koch sehr gerne einige Färbeversuche mit ostafrikanischen Recurrensspirochaeten gemacht, um bei diesem frischen und tadellosen Material Aufschluss über den Bau und die Theilung zu erhalten.

Im Anschluss untersuchte ich die Zahnspirochaeten.

1. Recurrensspirochaeten.

Als Material wurde Affenblut benutzt, dem Thiere während eines Fieberanfalles entzogen; es kam sowohl als Ausstrich zur Verwendung, wie in besonderer Präparation, welche in folgender Weise geschah: Etwa 1 ccm Blut wurde von Hrn. Stabsarzt Dr. Kleine mit 9 ccm eines Gemisches von gleichen Theilen Serum und physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, mässig centrifugirt, sodass die Hauptmasse der rothen Blutscheibchen ausgeschleudert wurde; der von diesen abgegossene Theil hierauf stark centrifugirt, so dass die Flüssigkeit klar wurde; der Bodensatz enthielt alsdann den Rest der rothen Blutscheibchen und fast sämmtliche Spirochaeten. Da mir Versuche mit ihm zeigten, dass er selbst bei dünnstem Ausstrich sich zur Geisselfärbung nicht eignete, weil der Untergrund in den Präparaten sich stark mitfärbte, so wurde er in 4 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung gut verteilt und hierauf mit 20 ccm einer Osmiumlösung 1:3000 versetzt. Nach dem Absetzen während 48 Stunden wurde die über dem Bodensatze stehende Flüssigkeit abgegossen und nun von ihm genügend saubere Ausstriche erzielt.

Die Blutausstriche wurden in der üblichen Weise mit Alkohol-Aether fixirt; die abgesetzten Spirochaeten meist mit Hülfe der Flamme. Während in den ersteren sich fast nur Spirochaeten von gestreckter Form befanden, zeigte das abgesetzte Material durchgehend stark spiralige Aufrollung. (Vgl. die Figg. 1 bis 4 und 6 bis 23, Taf. VII.)

Bei keiner Art der Färbung ist es mir gelungen, eine Differenzirung im Körper der Spirochaete zu erkennen; weder bei schwacher und mittelkräftiger noch stärkster Färbung mit neutralen sowie alkalischen Anilinfarben



oder mit Methylenazur und Eosin bzw. Giemsas Flüssigkeit habe ich in den Spirochaeten stärker gefärbte als Chromatin ev. Blepharoplast und undulirende Membran zu deutende Theile erkennen können trotz des grössten Bemühens, solche Unterschiede sehen zu wollen, und obgleich die Breite der Spirochaeten eine genügende ist, um sie wahrnehmen zu können; als einzigen Unterschied starker Romanowski-Färbung gegenüber schwacher sowie derjenigen mit einfachen Anilinfarbstoffen konnte ich ungefärbte Lücken beobachten, welche zwischen den einzelnen Windungen der Spirochaeten auftreten und eine Quertheilung andeuten, wie eine solche bei saprophytischen Spirochaeten ev. feinen Spirillen schon bei Färbung mit einfachen Anilinfarben zu erkennen ist. Zum Beweise mögen die Figg. 1, 4 und 5, Taf. VII dienen: Ich bin der Meinung, dass diese hellen Zwischenräume aus einer ohne Beizung nicht oder nur ausnahmsweise mit sehr starken Lösungen sich färbenden Substanz des Spirochaetenkörpers bestehen, genau so, wie dies der Fall ist bei den Fäden von Milzbrand, Proteus und allen Bakterien, welche lange Verbände bilden, deren Gliederung erst durch Färbung erkennbar wird, da das Ectoplasma zwischen den einzelnen gefärbten Theilen des Bakterienfadens ungefärbt bleibt. Dass die Färbung nach Romanowski vorzüglich geeignet ist, um feine Unterschiede im Körper der Bakterien wahr zu nehmen, habe ich (3) durch meine Veröffentlichung bereits 1899 gezeigt. Heute, wo dieselbe Färbung mit sehr verdünnten Farbstoffen geschieht und eine Ueberfärbung bei vielen Arten von Bakterien sowie dadurch bedingte Differenzirung vermieden werden kann, vollzieht sie sich bedeutend leichter und sicherer. Ich habe diesen mit einfachen Anilinfarben ungefärbt bleibenden Bestandtheil das Ectoplasma der Bakterienzelle genannt und betrachte auch in vorliegendem Falle die in den Lücken befindliche Masse als solches; den sich roth färbenden Theil der Spirochaete als ein inniges Gemisch von Chromatin und Entoplasma. Während bei den grossen Bakterien, vor allen Dingen bei den grossen Spirillen diese beiden Bestandttheile von einander getrennt liegen und leicht durch ihre verschiedene Färbung erkennbar sind, da die Chromatinkugeln roth, bei nicht zu starker Färbung sogar noch mit achromatischer Zone versehen im blaugefärbten Entoplasma liegen, so ist dies bei einer gewissen geringen Grösse der Bakterien nicht mehr der Fall; die Färbung ist eine gleichmässige; es herrscht eine mehr oder weniger blaurothe Färbung vor und unsere heutigen optischen Hülfsmittel geben uns nicht mehr darüber Auskunft, ob es sich in diesen Fällen um eine innige Mischung dieser beiden Stoffe handelt, wie ich es annehme, oder ob der eine Bestandtheil, das Chromatin, allein vorhanden ist. Dieser Anschauung entsprechend betrachte ich bei den Spirochaeten die Hauptmasse ihres Körpers als aus einem innigen Gemisch von Chromatin und Entoplasma bestehend und umgeben



von dem durch Beizung leicht nachweisbaren Ectoplasma. (Vgl. die Taf. VII, Figg. 37 bis 39.)

Einen Zerfall der Recurrens-Spirochaeten in einzelne Glieder und eine Zerstreuung derselben wie Fig. 5, Taf. VII dies bei einer saprophytischen Art zeigt, habe ich in Blutausstrichen niemals beobachtet; selbst kurze Verbände sind nicht allzu häufig; möglicher Weise vollzieht sich der Zerfall im Knochenmark.

Die gewöhnliche Art der Teilung, welche man in Blutausstrichen beobachtet, ist die bekannte und mehrfach z. B. im mikrophotographischen Atlas von Fränkel und Pfeiffer abgebildete: Eine längere Spirochaete theilt sich ziemlich genau in der Mitte, indem ihr Körper sich an dieser Stelle aus einander zieht. (Vgl. Figg. 2 bis 4, Taf. VII.) Besser als in Blutausstrichen lassen sich die einzelnen auf einander folgenden Zustände der Theilung bei abgesetzten, mit alkalischem Methylenblau gefärbten Präparaten erkennen (Taf. VII, Figg. 6 bis 9); noch besser bei gebeizten, indem bei diesen das in der Trennungsstelle sich ansammelnde Ectoplasma durch die Beizung gut sichtbar wird (Taf. VII, Figg. 10 bis 13). Während die Figg. 6 und 7, Taf. VII eine kleine Spirochaete und ihre Theilung zeigen, die Figg. 8 und 9, Taf. VII denselben Vorgang bei einer sehr langen Spirochaete erläutern, lassen die Figg. 10 bis 13, Taf. VII die Theilung einer mittelgrossen Spirochaete erkennen; bei Fig. 10, Taf. VII sieht man die erste Andeutung der Theilung, indem in der Mitte eine dünne Stelle sichtbar wird; bei Fig. 11, Taf. VII zeigt sich ein dünner Faden von Ectoplasma, welcher bei Figg. 12 und 13, Taf. VII gerade noch sichtbar ist, bis schliesslich die vollständige Trennung eintritt Von einer Aufnahme der letzteren habe ich abgesehen, da ein solches Bild, besonders bei abgesetzten Spirochaeten, als eine durch Zufall entstandene Aneinanderlagerung zweier Spirochaeten gedeutet werden kann.

Geisseln habe ich trotz kräftigster Einwirkung von Antimonbeize, welche solche bei anderen beweglichen Bakterien mit Leichtigkeit sichtbar macht, bei den Recurrens-Spirochaeten nicht nachweisen können; dagegen werden die beiden Endglieder der Spirochaete, welche in den Blutpräparaten als unklare Zuspitzungen verlaufen und welche bei abgesetzten, mit stark alkalischem Methylenblau gefärbten Spirochaeten (Taf. VII, Figg. 6 bis 9) bereits besser zu sehen sind, sehr deutlich sichtbar; bei schwacher Beizung (Taf. VII, Figg. 14 und 21) erscheinen sie als sehr feines, bei starker (Taf. VII, Figg. 15 und 22) als kräftigeres, den vorhergehenden Windungen in der Krümmung meist gleichendes Endglied; sie erregen die Vermuthung, als ob sie für den Zweck der Fortbewegung dienen, wie Geisseln.

Gegen diese Ansicht spricht ihre geringe Grösse, sowie der Umstand, dass sie einfache Anilinfarben annehmen, wenn auch nur schwach;



für dieselbe, die Lage an den Polen, sowie ihre Dicke, in Folge deren die Energie, welche sie ausüben können, vielleicht grösser ist, als bei langgestreckter dünner Form; ferner ihre stärkere Färbbarkeit nach Anwendung von Beizen; letzteres Verhalten lässt den Schluss zu, dass sie mindestens in der Hauptmasse aus Ectoplasma bestehen, wie die Geisseln der Bakterien; da dieses Ectoplasma jedoch schon durch einfache Anilinfarben leicht sichtbar gemacht werden kann, muss es eine andere Zusammensetzung besitzen als dasjenige, welches bei der Hauptmasse der Bakterien vorkommt.

Als Breite der Recurrens-Spirochaeten in stark nach Romanowski gefärbten Blutpräparaten habe ich 0·2 bis 0·22 μ gefunden; abgesetzte Spirochaeten erscheinen am dicksten nach der Färbung mit heissem alkalischem Methylenblau; 0·4 bis 0·5 μ; bei kräftiger Färbung nach Romanowski oder mit Carbolfuchsin erscheinen sie wohl klarer und schärfer conturirt als in Blutpräparaten oder nach Anwendung von alkalischem Methylenblau, haben jedoch an Durchmeser den ersteren gegenüber nicht wesentlich zugenommen; sie messen etwa 0·3 μ; bedeutend dicker erscheinen sie im Präparate nach Beizung mit Tannin oder gerbsaurem Antimonoxyd und darauf folgender Färbung mit Carbolfuchsin oder Versilberung; diese intensive Färbung lässt sie dem Auge sogar dicker erscheinen, als sie wirklich sind; die Messung bei den Figg. 10 bis 17, Taf. VII ergiebt 0·4 bis 0·5 μ. Ihr Durchmesser hat also durch die starke Färbung des Ectoplasmas um die Hälfte zugenommen im Vergleich zu den nach Romanowski kräftig gefärbten Exemplaren (von 0·3 auf 0·45 μ); gegenüber den mit heissem alkalischen Methylenblau gefärbten Präparaten jedoch nur wenig oder gar nicht. Bei der Mehrzahl der mit Geisseln versehenen Bakterien ist diese Zunahme bedeutend stärker, besonders bei Vibrionen, z. B. denen der asiatischen Cholera; bei diesen[1] ergiebt die Messung der drei im Aussehen von einander sehr abweichenden Choleravibrionen bei gewöhnlicher Färbung eine Breite von 0·4 bis 0·55 μ; nach der Beizung eine solche von 1·2 bis 1·5 μ; die Breite ist also auf das $2^1/_2$- bis 3 fache gestiegen.

Die Bestimmung der Breite geschah durch Messung auf normalen Copieen und zwar durch Auflegen eines in Fünftel Millimeter getheilten Maassstabes und unter Benutzung einer Lupe mit 6 facher Vergrösserung. Da die Negative bei genauer 1000 facher Vergrösserung aufgenommen waren, entspricht jeder Theilstrich des Maassstabes 0·2 μ; die Hälfte eines Theilstriches konnte mit Sicherheit abgelesen werden.

Bei Gelegenheit dieser Messungen beobachtete ich bei einer Spirochaete, nämlich der in Fig. 10, Taf. VII dargestellten, sowohl an den vorletzten Polgliedern wie an den beiden Trennungsgliedern in der Mitte je eine

[1] Vgl. die Tafel I im *Klin. Jahrbuch.* Bd. XI. S. 418.

einem länglichen Korne ähnliche dunklere Stelle; im Negativ war es kaum möglich an diesen vier Stellen eine grössere Helligkeit wahrzunehmen. Versuche durch kürzere Copirzeit und unter Benutzung von hart arbeitendem Papier diese Stellen besser zur Ansicht und in einen zur Reproduction geeigneteren Zustand zu bringen, schlugen fehl. Bei Gänsespirochaeten dagegen tritt ein solches dunkles Korn ziemlich häufig und deutlich auf, wie die Figg. 41 u. 42, Taf. VII es zeigen. Oben normal, unten auf hart arbeitendem Papier schwach copirt. Es sind Theile aus zwei Copieen von Negativen, welche ich 1898 nach einem mit Fuchsin gefärbten Präparat von Gabrischewski angefertigt habe. Diese beiden Figuren zeigen auch, dass unsere Bestimmungen der Dimensionen bei den kleinsten Lebewesen nur ungefähre sind; die stark copirten Gänsespirochaeten sind doppelt so breit, wie die schwach copirten; ähnlich liegen die Verhältnisse bei Herstellung der Negative. Ein kurz exponirtes dünnes Negativ lässt den betreffenden Organismus dicker erscheinen als ein lang exponirtes und kräftig entwickeltes; hierzu kommen noch die Unterschiede, welche eine schwache Färbung gegenüber einer starken bedingt; sowie die Veränderungen, welche die Einbettung in Balsam durch Schrumpfung mit sich bringt.

Lässt man Recurrensblut einige Zeit stehen, so beobachtet man bekanntlich, dass die Spirochaeten sich zu kleineren und grösseren Gruppen zusammenfinden, wie dies bei Gänse- und Hühnerspirochaeten bereits einige Zeit vor dem Tode im kreisenden Blute geschieht; hierbei finden allerlei Verschlingungen der Spirochaeten statt und solche sind auch in den mit den abgesetzten Spirochaeten angefertigten Präparaten reichlich vorhanden (Taf. VII, Figg. 16 bis 20); darunter solche, welche Längstheilungen vortäuschen können (Fig. 16 die dicke Spirochaete rechts und Fig. 21, Taf. VII); ferner beobachtet man nicht selten in den gebeizten Präparaten Spirochaeten mit Schmutzsäumen, welche wie eine undulirende Membran dem Körper der Spirochaete anliegen (Taf. VII, Fig. 22) oder ihn allseitig umgeben (Taf. VII, Fig. 23); die letzteren Täuschungsformen liegen stets an nicht sauberen Stellen des Präparates; man sieht deutlich bei Fig. 22, Taf. VII und zwar noch klarer im Präparat, als in der Reproduction, dass die im Untergrund vertheilten Schmutzkörnchen sich in den Einbiegungen der Spiralen festgesetzt haben; ferner, dass der blasse Saum bei Fig. 23, Taf. VII von dem dunklen Haufen der Blutscheibchen herrührt. Die Figg. 18 und 19, Taf. VII haben, abgesehen von dem Fehlen der Kerne, hohe Aehnlichkeit mit dem Theilungsstadium Fig. 17*b* in Schaudinn's oben angeführter Arbeit, während die Fig. 21, Taf. VII einer Längstheilung nicht unähnlich ist.

Da ich bei dem jetzigen Stande meiner Kenntnisse eine Vermehrung

der Spirochaeten nur durch Quertheilung annehmen kann; ferner Theile, welche als Kern oder Blepharoplast zu deuten sind, durch die besten Methoden nicht habe nachweisen können; andererseits ihr Verhalten bei der Theilung von der bei Bakterien üblichen Art bedeutend abweicht, so muss ich es der Zukunft überlassen zu entscheiden, ob sie fernerhin bei den Bakterien verbleiben sollen oder als besondere Uebergangsform von diesen zu den Protozoën zu rechnen sind.

II. Zahnspirochaeten.

Das leicht zu beschaffende Material, welches mehrere bis fünf verschiedene Arten dieser Spirochaeten und zwar oft in grosser Menge enthält, wurde in Gestalt eines Schleimklümpchens mit dem Platindraht von der Zahnwurzel entnommen, direct in einem Tropfen Osmiumsäure 1:2000 gut verrieben und dünn ausgestrichen. Die Schicht erwies sich alsdann für die stärkste Beizung als gut geeignet.

Fig. 24, Taf. VII zeigt vier verschiedene Arten aus einem mit Carbolfuchsin stark gefärbten Präparate, während die Figg. 29, 32 u. 34, Taf. VII entsprechende Sorten in gebeiztem Zustande zeigen; bei schwacher Romanowski-Färbung erscheinen sie sehr zart (Taf. VII, Fig. 25), bei starker beinahe so dick wie nach Beizung (Taf. VII, Figg. 26 u. 27). Die Breite beträgt bei den dünnsten Arten 0·1 bis 0·15 μ und steigt bei den dicksten auf 0·4 μ; sie nimmt durch die Beizung bei den kleinsten Arten stärker zu, als bei den grossen; sie beträgt alsdann für erstere etwa 0·3 bis 0·4 μ und steigt bei den letzteren auf 0·8 bis 1·0 μ. Spirochaeten in Theilung sieht man nicht allzu häufig und trifft sie nur in ungebeizten Präparaten; selbst eine sehr kräftige Romanowski-Färbung lässt die Stelle der Theilung durch Ueberfärbung nicht zur Ansicht gelangen; vergleiche die Fig. 27, Taf. VII oben, eine in Theilung begriffene Spirochaete kleinster Art; andererseits werden die Geisseln mancher Bakterien in solchem Falle sichtbar; so habe ich in einem solchen Präparat das in Fig. 34, Taf. VII abgebildete grosse Bacterium und das Spirillum sputigenum mit schön rosenroth gefärbten Geisseln mehrfach beobachtet. Die Fig. 33, Taf. VII zeigt zwei Spirochaeten in Theilung aus einem mit alkalischem Methylenblau gefärbten Präparate. Nach Beizung erscheinen daher alle Spirochaeten so stark verdickt, dass die Theilungsstellen vollkommen unkenntlich werden. Die Zahnspirochaeten besitzen ein sehr starkes Ectoplasma. Wenn man nach Benutzung von Antimonbeize das Aethylaminsilber bei Zimmertemperatur nur kurze Zeit, 10 bis 40 Secunden, auf das Präparat einwirken lässt, gelingt es ziemlich leicht die Spirochaeten und Bakterien so



schwach zu versilbern, dass sie mit gelber bis gelbbrauner Farbe durchsichtig bleiben, indem nur ihr sie allseitig umgebendes Ectoplasma schwach gefärbt wird; im optischen Querschnitt erscheint es alsdann als starke, den Centralkörper umgebende, je nach der Kraft der Versilberung mehr oder weniger breite, fast schwarze Linie, von welcher bei Bakterien mit Geisseln diese ausstrahlen. Der ungefärbte Centralkörper erscheint im Mikroskop gelb, da er durch das gelbgefärbte Ectoplasma beobachtet wird. Bei der photographischen Aufnahme mit gelbem Filter erzielt man alsdann bei passender Belichtung Bilder, wie sie Figg. 32 und 33, Taf. VII bei Zahnspirochaeten und dem Spirillum sputigenum, ferner Fig. 35, Taf. VII bei Spirillum Rugula besonders deutlich zeigen. Bei letzterer Figur beträgt die gesammte Breite $1 \cdot 3\,\mu$; das Ectoplasma nimmt davon auf jeder Seite $0 \cdot 3\,\mu$, die helle Mitte $0 \cdot 7\,\mu$ in Anspruch. Macht man die Aufnahme mit blauem statt mit gelbem Filter, so werden die blauen Strahlen nicht nur von der dunklen Linie, sondern auch von dem hellgefärbten, die Mitte deckenden Theil des Ectoplasmas absorbirt; daher erscheint in Fig. 36, Taf. VII dieselbe Stelle des Präparates bei blauem Filter tief schwarz und die Geisseln kräftiger als bei Fig. 35, Taf. VII. Auch bei den Recurrensspirochaeten ist es mir trotz ihrer geringen Breite gelungen das Ectoplasma allein zu färben und durch die Figg. 37 bis 39, Taf. VII zur Anschauung zu bringen. Der Deutlichkeit wegen habe ich für diesen Fall ausnahmsweise eine stärkere Vergrösserung gewählt, als die übliche 1000 fache, nämlich 1600 fach.

Trotz stärkster Beizung habe ich bei Zahnspirochaeten niemals Geisseln beobachtet, dagegen Täuschungsfiguren gesehen, wie solche die Figg. 30 u. 31, Taf. VII zeigen. Bei Gegenwart von Geisselbakterien befinden sich in einem solchen Präparate stets abgerissene Geisseln, welche sich den schleimigen Spirochaeten mitunter derartig anhängen, als ob sie ihnen sicher zugehören (Taf. VII, Fig. 30); eine Durchmusterung des Präparates zeigt jedoch bald, dass es wohlgelungene Täuschungsfiguren sind, wie z. B. Fig. 31, Taf. VII es erläutert, wo die Geissel nicht vom Pol ausgeht, sondern etwas unterhalb desselben quer auf der Spirochaete sich aufgelagert hat.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Schaudinn, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1904. Bd. XX.
2. Derselbe, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 42.
3. Zettnow, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX.



Erklärung der Abbildungen.
(Taf. VII.)

Figg. 1—4. Ostafrikanische Recurrens-Spirochaeten in Ausstrichen von Affenblut, und zwar 1 und 2 gefärbt mit Giemsa's Flüssigkeit für Romanowski-Färbung; 2 und 3 schwach gebeizt mit frischem Ferrotannat, dann mit Carbolfuchsin heiss gefärbt. 1 und 4 zeigen gut die Lücken, 2 und 3 die Theilung in der Mitte.

Fig. 5. Saprophytische Spirochaete nach einem von Robert Koch 1876 angefertigten, mit Fuchsin gefärbten Präparat; die Lücken deuten hier mit Sicherheit die Quertheilung an; unten Loslösung einzelner Glieder.

Figg. 6—23 zeigen abgesetzte Recurrens-Spirochaeten.

Figg. 6—9, gefärbt mit heissem alkalischen Methylenblau, zeigen eine mittelgrosse und eine sehr lange Spirochaete, sowie ihre Theilung.

Figg. 10—13 gebeizt mit gerbsaurem Antimonoxyd, dann mit Aethylaminsilber behandelt. Diese vier Figuren zeigen, wie bei der Theilung zuerst in der Mitte eine dünnere Stelle bemerkbar wird und wie diese sich vergrössert, indem das nach dieser Stelle hinströmende Ectoplasma fadenförmig bei dem Auseinandergehen der beiden Theilungshälften ausgezogen wird.

Fig. 14 schwach gebeizt, zeigt zarte Endglieder. Fig. 15 stark gebeizt, zeigt kräftige Endglieder.

Figg. 16—23 aus gebeizten und mit Aethylaminsilber behandelten Präparaten zeigen in 16 und 17 Gruppen, in 18 bis 21 Verschlingungen, in 22 und 23 Spirochaeten mit Schmutzsäumen.

Die **Figg. 24—34** zeigen Spirochaeten aus Zahnbelag.

Fig. 24 mit heissem alkalischen Methylenblau gefärbt, vier verschiedene Arten.

Fig. 25 schwache, Figg. 26 und 27 sehr starke Romanowski-Färbung.

Fig. 28 Theilungsformen aus einem mit Methylenblau gefärbten Präparat.

Fig. 29 aus einem schwach gebeizten und versilberten Präparat; die Spirochaeten sind nicht viel dicker als bei sehr starker Romanowski-Färbung.

Die Figg. 30, 31 und 34 aus einem stark gebeizten Präparat zeigen, dass bei Geisseln tragenden Bakterien diese durch die Präparation sichtbar geworden sind (Fig. 34); ferner dass abgerissene Geisseln mitunter an den Zahnspirochaeten ankleben und zu Täuschungen Veranlassung geben können.

Figg. 32 und 33. Das Präparat war stark gebeizt, jedoch nur sehr kurze Zeit mit Aethylaminsilber behandelt; daher zeigt sich nur das Ectoplasma gefärbt; Fig. 33 sehr schwach copirt, damit in der Reproduction das Ectoplasma gut wiedergegeben wird; Fig. 32 dieselbe Stelle stärker copirt; wegen Platzmangel ist die längste Spirochaete (Fig. 33 links) ausgeschnitten und in den leeren Raum eingeklebt.



Figg. 35 und **36** stark gebeizt, schwach versilbert. Spirillum Rugula sp[illegible] in Jauche. Dieselbe Stelle 2 mal aufgenommen; bei Fig. 35 mit hellgelbem F[illegible] um das Ectoplasma gut zu zeigen; bei Fig. 36 mit blauem Filter; die blauen Stra[illegible] wurden durch die schwache gelbe Färbung der mittleren Theile des Spirillums [illegible] sorbirt und konnten nicht auf die photographische Platte wirken; daher das Spiri[illegible] völlig schwarz erscheint.

Figg. 37—39. Recurrensspirochaeten aus abgesetztem Material, schwach [illegible] beizt und gesilbert. Fig. 37 aus einem am schwächsten gefärbten, Figg. 38 un[illegible] aus einem etwas kräftigeren Präparat; um das Ectoplasma deutlich zur Anschau[illegible] zu bringen, wurde statt der üblichen 1000fachen eine 1600fache Vergrösserung gew[illegible]

Fig. 40. Spirochaete Theileri; Rinderblut, Romanowski-Färbung.

Figg. 41 und **42.** Gänsespirochaeten nach einem mit Fuchsin gefärbten B[illegible] ausstrich. Beide Figuren zeigen im oberen Theil die normale Copie; im unteren [illegible] selben Stellen auf hartem Papier nicht auscopirt, um die in den Spirochaeten [illegible] tretenden dunkleren Stellen besser zur Anschauung zu bringen.

Die Vergrösserung ist bei den Figg. 37—39 eine 1600fache, bei allen übr[illegible] eine 1000fache.

Die Nr. 5, 25, 27, 28, 30 sind aus Einzelfiguren, welche von verschiede[illegible] Negativen herrühren, zusammengesetzt.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Impftuberculose durch Perlsuchtbacillen.

Von

Stabsarzt Dr. **F. K. Kleine**.

Bei der grossen Aufmerksamkeit, welche die Aerzte der Lehre vom ualismus des „menschlichen“ Tuberkelbacillus und Perlsuchtbacillus zuvenden, ist es von Interesse zu wissen, ob Perlsuchtbacillen durch den ufenthalt im menschlichen Körper ihre ursprünglichen Eigenschaften erlieren und ob ein etwaiger Einfluss, den das Verweilen im Menschen usübt, mit der Länge der verflossenen Zeit in Beziehung steht. Derrtige Untersuchungen tragen zur Charakterisirung der Bacillen wesentlich ei und besitzen auch vom hygienischen Standpunkt aus eine gewisse Beleutung. Im Folgenden soll berichtet werden über Versuche, die zur Klärung der Fragen auf Veranlassung und unter Leitung von Hrn. Geeimrath R. Koch im Institute für Infectionskrankheiten vor einigen ahren[1] unternommen wurden. Als Ausgangsmaterial dienten erlsuchtbacillen, die ich aus der Haut von Fleischern züchtete, velche an Tuberculosis verrucosa cutis litten. Die Mittel zur Beschaffung der Rinder, die wir zur Prüfung der Culturen benöthigten, ewilligte das Königliche Ministerium für Landwirthschaft und gestattete ugleich die Unterbringung der Thiere in den Stallungen des Pathologischen nstituts der Thierärztlichen Hochschule. Hr. Geh. Regierungsrath Prof. r. Schütz machte unter Assistenz von Hrn. Dr. Miessner die Obducionen und redigirte die Sectionsprotokolle.

Bevor die Versuchsergebnisse geschildert werden, seien einige Worte iber die sogenannte Tuberculosis verrucosa cutis gesagt. — Sie bildet ie leichteste Form, unter der beim Menschen die Impftuberculose aufreten kann. Während sie im Allgemeinen nur selten zur Beobachtung elangt, werden einige Berufe, wie Leichendiener, Arbeiter in den Kohlen-

[1] Die Veröffentlichung wurde durch äussere, zufällige Gründe, wie Auslandseisen, anderweitige dringendere Arbeiten u. s. w., bis jetzt verzögert.

bergwerken[1] und Tischler[2], häufiger von dem Leiden befallen. Wie gerade die beiden letztgenannten Beschäftigungsarten zu einer Impftuberculose führen, ist nicht ohne Weiteres klar. Möglicher Weise würden bezügliche ätiologische Untersuchungen ergeben, dass das klinische Bild der Hautaffection nicht immer auf den echten Tuberkelbacillus, sondern auch auf verwandte Mikroorganismen zurückzuführen ist. Ein vierter Beruf, der häufiger befallen wird, sind die Schlächter. Hier ist die Ursache leicht zu errathen. Das Hantiren mit Fleisch und Knochen perlsüchtiger Rinder bringt naturgemäss kleine Verletzungen und nachfolgende Infectionen mit sich. Lassar[3] fand auf dem Berliner Schlachthofe unter 365 mit perlsüchtigen Thieren in Berührung kommenden Leuten 7 mit sicherer Impftuberculose an den Fingern, 3 waren suspect. Es hatten also — die verdächtigen Fälle zugerechnet — fast 3 Procent an den Händen Tuberkelknoten. Alle diese Personen waren im Uebrigen gesunde und kräftige Männer.

Von solchen an Hauttuberculose leidenden Fleischern stammen, wie schon gesagt, die Perlsuchtculturen, welche zur Prüfung kamen. Bei fünf Personen wurden sieben Knoten, die klinisch das typische Bild von Tuberculosis verrucosa cutis bildeten, von Handrücken und Fingern exstirpirt. Die Leute waren durchaus gesund und litten nicht an Drüsenschwellungen u. s. w. Nur schwer konnte man sie dazu überreden, dass sie sich die Warzen, die ihnen keine Beschwerden verursachten und die sie als durchaus harmlos ansahen, exstirpiren liessen. Die Zeit, seit welcher die einzelnen tuberculösen Hautveränderungen bei den Leuten bestanden, schwankte zwischen $^1/_4$ Jahr und 8 Jahren. Die sieben exstirpirten Hautstücke wurden unter die Bauchhaut von jedes Mal vier Meerschweinchen gebracht, welche sämmtlich an Tuberculose erkrankten und, so weit sie nicht zu Culturzwecken getödtet wurden, nach einigen Wochen daran starben. Die Culturen legten wir etwa 20 Tage nach der Impfung aus der Milz der Meerschweinchen und den der Impfstelle benachbarten Drüsen auf erstarrtem Blutserum an. Hier war das ausserordentlich langsame und spärliche Wachsthum der Bacillen bemerkenswerth. Während sie im Ausgangsmaterial stets zahlreich vorhanden gewesen waren, erschien die Zahl der gewachsenen Colonieen nur klein, ja nicht wenige der geimpften Röhrchen blieben vollständig steril. Im mikroskopischen Bilde fiel die Kürze und Dicke der Bacillen auf. Bevor wir die Culturen an Rindern prüften, empfahl es sich, zur Gewinnung von reichlicherem, leicht dosirbarem Material, die Bacillen auf Glycerinbouillon

[1] Fabry, *Archiv für Dermatologie und Syphilis.* 1900. Bd. LI.

[2] Josef u. Trautmann, Ueber Tuberculosis verrucosa cutis. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1902. Nr. 12.

[3] Lassar, Ueber Impftuberculose. *Ebenda.* 1902. Nr. 40.



zum Schwimmen und Wachsen zu bringen. Das Wachsthum auf der Bouillon, wie auf dem sonst so vortrefflichen Proskauer-Beck'schen flüssigen Nährboden war ganz ausserordentlich dürftig und langsam; trotz vieler angewandter Kunstgriffe vergingen Wochen auf Wochen, bis uns eine genügende Quantität zur Verfügung stand. Auf derartige culturelle und morphologische Eigenheiten des Rindertuberkelbacillus hat zuerst Theobald Smith[1] aufmerksam gemacht. Wir konnten also seine Beobachtungen bestätigen; auch Ravenet[2], wie Kossel[3] und seine Mitarbeiter berichten ähnliche Erfahrungen. — Durch den verhältnissmässig langdauernden Aufenthalt unserer Bacillen auf künstlichem Nährboden wird das Resultat der unten beschriebenen Versuche an Rindern hinsichtlich der zu ziehenden Schlussfolgerungen nicht beeinträchtigt, denn eine Steigerung der Virulenz kann durch jenen Aufenthalt nicht erreicht sein, eher eine Abschwächung. Sobald eine genügende Menge Bacillen vorhanden war, wurden sie abfiltrirt, mit physiologischer Kochsalzlösung flüchtig gewaschen und dann mit dem Platinspatel auf eine Schicht Fliesspapier gebracht. Nach tüchtigem Abtrocknen wogen wir einen Theil ab und verrieben ihn im Achatmörser mit physiologischer Kochsalzlösung sorgfältig zu einer Emulsion, die auf 100^{ccm} Flüssigkeit 1^{grm} Bacillen enthielt. Von der Emulsion wurden immer $5^{\text{ccm}} = 0 \cdot 05^{\text{grm}}$ Substanz einem Rind unter die Haut des Halses gebracht. Daß die inficirten Rinder vorher die Tuberkulinprobe bestanden hatten, braucht eigentlich kaum hervorgehoben zu werden. Es geschieht aber doch, weil Untersuchungen veröffentlicht sind, bei denen diese wichtige Prüfung ganz unterlassen oder in unzureichender Weise vorgenommen wurde. Die Versuche sollen in der Reihenfolge besprochen werden, dass wir mit den Bacillen beginnen, welche die kürzeste Zeit — $^1/_4$ Jahr — im menschlichen Körper waren, und mit denen endigen, die sich dort fast 8 Jahre befanden.

1. Cultur St. II. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die $^1/_4$ Jahr bestand.

3. VI. 02. Kalb 23, Gewicht 156^{kg}; $0 \cdot 05^{\text{grm}}$ Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf. Temperatur: Am 14. VI. Steigerung über 40°, von da ab 9 Tage zwischen 40 und 41°. Dann ziemlich normale Temperatur, und vom 14. VII. ab fast beständiges Fieber zwischen 40 und 41°.

---

[1] Theobald Smith, A comparative study of bovine tubercle bacilli and of human bacilli from sputum. *Journal of experimental medicine*. 1898. Bd. III.

[2] M. P. Ravenet, The intercommunicability of human and bovine tuberculosis. *Proceedings of the Pathological Society of Philadelphia*. 1902.

[3] Kossel, Weber und Heuss, Vergleichende Untersuchung über Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft. *I. Tuberculose-Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1904.



Impfstelle: Nach 12 Tagen faustgrosses Infiltrat, bleibt bestehen.

Bugdrüse: Nach 12 Tagen 3 fach vergrössert, nach 20 Tagen doppelfaustgross, wird allmählich um die Hälfte kleiner.

Husten: Besteht vom 10. VIII. 02.

Gewicht: Zunahme um 19 kg.

Getödtet: Nach $5^1/_2$ Monaten, am 14. XI. 02.

Befund: Cadaver zeigt einen sehr schlechten Ernährungszustand.

Impfstelle: Bindegewebige, hühnereigrosse, mit der Haut und dem Muskel verwachsene Geschwulst. Beim Durchschneiden entleert sich dünnflüssiger Eiter.

Bugdrüse rechts: Doppelt so gross wie normal, verkäst. Auf dem Durchschnitte sieht man eine gelbe, käsige, ziemlich trockene Masse, die von einigen grauen Gewebszügen durchsetzt ist.

Bauchhöhle enthält ungefähr 2 Liter grünlichgelber trüber Flüssigkeit. Das Netz ist mit zahlreichen zackenförmigen, zarten tuberculösen Neubildungen besetzt. Auf dem Durchschnitt der Milz erkennt man viele hirsekorngrosse verkäste Knötchen.

In der Rindenschicht der rechten Nebenniere liegt ein linsengrosses Knötchen mit käsigem Inhalt.

Pleuren enthalten ungefähr $1^1/_2$ Liter röthlichgelber, trüber Flüssigkeit. Das parietale und das mediastinale Blatt des Brustfelles sind mit zahlreichen dunkelrothen, zottenförmigen, weichen tuberculösen Neubildungen besetzt.

Die Lungen sind an der Oberfläche mit zarten, fadenförmigen Anhängen besetzt; im Inneren eines jeden Lungenläppchens mehrere graue Knötchen mit verkästem Centrum.

Die Mediastinal- und Bronchiallymphdrüsen sind um das 3- bis 4 fache vergrössert und auf dem Durchschnitt zahlreiche linsengrosse, käsige Herde zu beobachten. Auch in allen übrigen Lymphdrüsen finden sich hirsekorn- bis linsengrosse käsige Knötchen.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Abgekapselte, verkäste tuberkulöse Höhle an der Infectionsstelle. Verkäste tuberculöse Herde in sämmtlichen Lymphdrüsen, Tuberculose des Brustfelles mit Miliartuberculose der Lungen, Tuberculose des Bauchfelles, verkäste tuberculöse Knötchen in der Milz und in der rechten Nebenniere. Abmagerung.

2. Cultur St. I. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die $^1/_2$ Jahr bestand.

29. V. 02. Kalb 20, Gewicht 181 kg; 0·05 grm Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf: Temperatur. In der Regel nur wenig über die Norm. Erst im November tritt unregelmässiges Fieber auf.

Impfstelle: Am 6. VI. hühnereigross, am 28. VI. faustgross, wird am 3. VIII. gespalten. Eiter entleert.

Bugdrüse: Am 6. VI. 2 mal vergrössert, schwillt allmählich zu Faustgrösse an. Später Rückgang bis zur Grösse eines Gänseeies.

Gewicht: Zunahme um 111 kg.

Getödtet: Nach $5^1/_2$ Monaten, am 15. XI. 02.

Befund: Cadaver befindet sich in einem schlechten Ernährungszustand.

Impfstelle: Hühnereigrosse, derbe, bindegewebige Geschwulst; auf



ihrem Durchschnitt einzelne linsen- bis erbsengrosse Knötchen mit gelbem, verkästem Centrum.

Bugdrüse rechts: 10 cm lang, $4^{1}/_{2}$ cm breit und 3 cm dick. Auf dem Durchschnitt zahlreiche bis haselnussgrosse, theilweise confluirende Herde. Sie enthalten eine graugelbe, ziemlich trockene Masse, in welcher beim Zerreiben zwischen den Fingerspitzen viele harte Körnchen nachzuweisen sind.

Bauchhöhle enthält ungefähr $1^{1}/_{2}$ Liter grünlichgelber, trüber Flüssigkeit. Das Netz ist fettarm und dicht besetzt mit Neubildungen, welche theils die Form blasiger, gelbgrauer bis markstückgrosser Platten, theils die Form erbsen- bis kastaniengrosser, höckriger Knoten aufweisen. Das parietale Blatt des Bauchfells, sowie der seröse Ueberzug der Leber zeigen zahlreiche bindegewebige Zöttchen von röthlicher Farbe. Die portalen Lymphdrüsen enthalten mehrere verkäste Knötchen von der Grösse eines Mohnsamenkerns bis zu der einer Linse. Die Milz zeigt auf dem Durchschnitt vereinzelte hirsekorngrosse Knötchen.

Pleuren enthalten ungefähr $1^{1}/_{2}$ Liter röthlichgelber trüber Flüssigkeit. Das Brustfell an den Rippenwandungen, dem Zwerchfell und dem Herzbeutel ist mit unzähligen erbsen- bis apfelgrossen röthlichgelbgrau gefärbten derben Knoten dicht besetzt. An der Oberfläche der grösseren Knoten zeigen sich noch kleinere Auswüchse. Auf dem Durchschnitt sind die Knoten gleichmässig grauweiss, markähnlich, mit eingesprengten hirsekorn- bis linsengrossen verkästen Herden. Die Lymphdrüsen der unteren Brustwand bilden haselnuss- bis kastaniengrosse Knoten, die auf dem Durchschnitt grau gefärbt und sehr feucht sind. Darinnen sind hirsekorngrosse gelbe Herde. Auch die Lymphdrüsen der oberen Brustwand sind um das 4- bis 5 fache vergrössert und von gelben Herden durchsetzt.

Die Lungen sind zusammengezogen, ihre Oberfläche ist dicht besetzt mit zarten, röthlich gefärbten bindegewebigen Anhängseln. Auf dem Durchschnitte sieht man innerhalb der Lungenläppchen zahlreiche hirsekorn- bis erbsengrosse, röthlichgelb gefärbte Stellen. Einzelne Stellen haben eine glasig durchscheinende Peripherie. Die bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen sind um das 5- bis 6 fache vergrössert. Ihr Gewebe ist auf dem Durchschnitt gelblichgrau gefärbt und feucht. Vereinzelte gelbe, mohnsamengrosse, verkäste Herde sind eingelagert.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Geschwulstartige Narbe mit vereinzelten abgekapselten, tuberculösen, verkästen Knötchen an der Infectionsstelle. Ausgebreitete käsige Tuberculose der rechten Bugdrüse. Tuberculose des Bauchfells und Netzes. Miliartuberculose der Milz und der portalen Lymphdrüse. Tuberculose des Brustfells, der Lungen, der Bronchial- und Mediastinallymphdrüsen.

3. Cultur S. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die $1^{1}/_{2}$ Jahre bestand.

13. V. 02. Kalb 18. Gewicht 178 kg. 0·05 grm Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf: Temperatur normal.

Impfstelle: Nach 10 Tagen hühnereigross, fest, beginnt vom 28. VI. ab klein zu werden. Später schwillt sie wieder an und zwar bis zu Faustgrösse.

Bugdrüse: Anfangs wenig geschwollen, ist vom 28. VI. ab ziemlich normal.



Gewicht: Zunahme um 144 kg.

Getödtet: Nach 6 Monaten, am 11. XI. 02.

Befund: Cadaver zeigt einen guten Ernährungszustand.

Impfstelle: Derber, mit der Haut fest verwachsener, etwa faustgrosser Knoten. Auf dem Durchschnitt wird eine hühnereigrosse Höhle eröffnet, welche mit einer gelblichgrau gefärbten, dickflüssigen Masse angefüllt ist.

Bugdrüse rechts: 7 cm lang, 4 cm breit und 2 cm dick. Sie enthält auf dem Durchschnitt einen haselnussgrossen Herd, welcher aus einer äusseren bindegewebigen Kapsel und innen aus einem engmaschigen Bindegewebsgerüst besteht. In dem Gerüst liegen unzählige harte, rauh anzufühlende und etwas prominirende gelb gefärbte Körnchen. Ausserdem finden sich auf anderen Durchschnitten der rechten Bugdrüse noch mehrere linsengrosse, abgekapselte Knötchen mit verkästem Inhalt. Im Uebrigen ist das Lymphdrüsengewebe braungrau gefärbt und feucht und zeigt in der Markschicht mehrere hellgraue Flecke. Die sonstigen Lymphdrüsen und Organe weisen keine Besonderheiten auf.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Abgekapselter, verkäster, tuberculöser Herd an der Infectionsstelle. Abgekapselte, verkäste und verkalkte tuberculöse Knoten und markige Schwellung in der rechten Bugdrüse.

4. Cultur Gr. II. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die $1^1/_2$ Jahre bestand.

11. VI. 02. Kalb 24. Gewicht 108 kg. 0·05 grm Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf. Temperatur: Ungefähr 8 Tage nach der Impfung steigt die Temperatur bis 41° C., um nach Verlauf von einer Woche wieder abzusinken. Doch bleibt sie andauernd gegen die Norm erhöht.

Impfstelle: Nach 10 Tagen derb und faustgross. Am 3. VIII. doppelfaustgross, wird gespalten.

Bugdrüse rechts: Schwillt in 10 Tagen zu Faustgrösse an und bleibt ziemlich unverändert.

Gewicht: Zunahme um 172 kg.

Getödtet: Nach 5 Monaten, am 14. XI. 02.

Befund. Impfstelle: Wallnussgrosse, derbe, mit der Haut und dem Halshautmuskel verwachsene, bindegewebige Schwiele, welche mehrere linsengrosse, verkalkte Knoten einschliesst.

Bugdrüse rechts: 7 cm lang, 3 cm breit und $2^1/_2$ cm dick. Auf dem Durchschnitte sieht man, dass der grösste Theil des Lymphdrüsengewebes in eine trockene, gelbe, käsige und zum Theil verkalkte Masse umgewandelt ist. Der noch erhaltene Rest des Lymphdrüsengewebes, welcher diese Masse in Form einer Kapsel umschliesst, ist bräunlichgrau, feucht und durchscheinend.

Bauchhöhle: Das Netz und das äussere Blatt des Bauchfells sind mit zarten, gelblichgrauen Neubildungen von glasigem Aussehen besetzt, die am Netze flächenartig und am äusseren Blatt des Bauchfells zottenartig gestaltet sind. Auf den Durchschnitten durch die Milz sieht man vereinzelte, hirsekorngrosse, verkäste Knötchen.

Lungen: Auf den Durchschnitten finden sich acht hirsekorn- bis linsengrosse Knötchen. Die Knötchen zeigen ein gelbes, verkästes Centrum und



eine graue, durchscheinende Peripherie. Die bronchialen und mediastinalen Lymphdrüsen sind um das 2- bis 3 fache vergrössert und auf dem Durchschnitte gelblichgrau gefärbt und sehr feucht.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Bindegewebige Schwiele mit verkalkten tuberculösen Knoten an der Infectionsstelle. Centrale verkäste und verkalkte tuberculöse Herde und peripherische Induration in der rechten Bugdrüse. Acht abgekapselte und verkäste, metastatische tuberculöse Knötchen in den Lungen, markige Schwellung der Bronchial- und Mediastinallymphdrüsen. Tuberculose des Bauchfells. Metastatische tuberculöse Knötchen in der Milz.

5. Cultur Z. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die 2 Jahre bestand.

6. V. 02. Kalb 15. Gewicht 164 kg. 0·05 grm Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf. Temperatur: Schwankt in den ersten 12 Tagen nach der Injection zwischen 40 und 41° C., später nur geringe, seltene Erhebungen über die Norm.

Impfstelle: Schwillt allmählich zu Faustgrösse an, wird am 4. X. gespalten.

Bugdrüse rechts: Am 2. VI. um das Doppelte vergrössert, schwillt später etwas ab.

Gewicht: Zunahme um 109 kg.

Getödtet: Nach 6 Monaten, am 4. XI.

Befund. Impfstelle: Hühnereigrosse, derbe, mit der Unterhaut und dem Halshautmuskel rechts verwachsene Geschwulst. Auf dem Durchschnitt liegen in dem röthlichgrau gefärbten, speckigen Gewebe viele stecknadelkopfgrosse, scharf begrenzte Herde mit trockenem, gelblichgrauem Inhalt und Höhlen von der Grösse einer Linse bis zu der einer Bohne, welche eine graugelbe, dicke, eiterige Flüssigkeit enthalten.

Bugdrüse rechts: 10 cm lang, 5 cm breit und 3 cm dick und von derber Consistenz. Auf dem Durchschnitte ist das Lymphdrüsengewebe gelblichgrau gefärbt und die Schnittfläche feucht glänzend. Die Markschicht zeigt verschiedene weissgraue Flecke, in der Rindenschicht dagegen liegen zahlreiche Herde, welche sich aus unzähligen gelben, harten, grieskorngrossen Körnchen zusammensetzen und sich beim Darüberstreichen mit den Fingerspitzen hart anfühlen.

Lungen: Das Gewebe, hauptsächlich der hinteren Lappen, ist von unzähligen stecknadelkopf- bis linsengrossen Knötchen mit gelbem, verkästem Centrum und grauer, durchscheinender Peripherie durchsetzt. Bei einzelnen Knötchen ist das nachbarliche Lungengewebe geröthet und feucht, während es bei den meisten hellroth gefärbt und trocken ist. Vielfach liegen auch mehrere kleine Knötchen zusammen und bilden dann erbsen- bis haselnussgrosse Knoten.

Die Bronchial- und Mediastinallymphdrüsen sind um das 4- und 5 fache vergrössert, auf dem Durchschnitt sind sie grau gefärbt und zeigen einen spiegelnden Glanz. Die Rindenschicht, in geringerem Maasse die Markschicht, ist durchsetzt von zahlreichen stecknadelkopf- bis bohnengrossen,



scharf begrenzten Herden, welche dasselbe Aussehen und die gleiche Beschaffenheit darbieten, wie sie bei der Bugdrüse beschrieben sind.

Die portalen Lymphdrüsen zeigen auf dem Durchschnitt mehrere kleine Knötchen mit verkästem Inhalt. Sonst ist nichts Krankhaftes nachzuweisen.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Bindegewebiger Knoten mit eingelagerten, verkästen tuberculösen Herden und Höhlen an der Infectionsstelle. Markige Schwellung und verkalkte, tuberculöse Herde in der rechten Bugdrüse, den Bronchial- und Mediastinallymphdrüsen. Miliartuberculose der Lungen, verkäste tuberculöse Knoten in den portalen Lymphdrüsen.

6. Cultur G. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die 3 Jahre bestand.

13. V. 02. Kalb 19. Gewicht 190 ^{kg}. 0·05 ^{grm} Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf. Temperatur: Fast stets normal.

Impfstelle: Schwillt in 8 Tagen zur Grösse eines Hühnereies an und bleibt bis Anfang September ziemlich unverändert. Dann tritt eine weitere Schwellung ein und am 6. X. wird der Abscess gespalten.

Bugdrüse rechts: Nach 10 Tagen 2 mal vergrössert, wird allmählich kleiner.

Gewicht: Zunahme 157 ^{kg}.

Getödtet: Nach 6 Monaten, am 11. XI. 02.

Befund: Cadaver zeigt einen guten Ernährungszustand.

Impfstelle: Derbe, mit der Haut und dem Halshautmuskel fest verwachsene, bindegewebige, fünfmarkstückgrosse Schwiele. Auf dem Durchschnitte sieht man vereinzelte, linsengrosse, abgekapselte Knoten mit käsigem Inhalt.

Bugdrüse rechts: 10 ^{cm} lang, 4 ^{cm} breit und 2·5 ^{cm} dick. Auf dem Durchschnitte finden sich einige linsen- bis erbsengrosse Knoten, die von einer bindegewebigen Hülle umgeben und mit einer gelbgefärbten trockenen Masse gefüllt sind. Das Lymphdrüsengewebe ist auf dem Durchschnitte blaugrau gefärbt und zeigt stellenweise hellgraue Flecke.

Die übrigen Lymphdrüsen und Organe lassen nichts Krankhaftes erkennen.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Bindegewebige Schwiele mit abgekapselten, verkästen Knoten an der Infectionsstelle; abgekapselte, verkäste, tuberculöse Knoten und markige Schwellung in der rechten Bugdrüse.

7. Cultur Gr. I. Gezüchtet aus verrucöser Hauttuberculose, die ca. 8 Jahre bestand.

6. V. 02. Kalb 16. Gewicht 220 ^{kg}. 0·05 ^{grm} Glycerin-Bouilloncultur unter die Haut am Halse rechts.

Verlauf. Temperatur: Fast stets normal.

Impfstelle: Wenig geschwollen.

Bugdrüse: Wenig geschwollen.

Gewicht: Zunahme 108 ^{kg}.

Getödtet: Nach 6 Monaten, am 4. XI. 02.

Befund. Impfstelle: Wallnussgrosser, derber, mit der Haut und dem Halshautmuskel fest verwachsener Knoten, der aus speckigem Bindegewebe besteht. Auf dem Durchschnitt ist letzteres von graugelben, scharf begrenzten, käsigen Zügen durchzogen.

Bauchhöhle: Auf den Durchschnitten durch die Milz sieht man zahlreiche stecknadelkopfgrosse, gelbe Knötchen. Auch die portalen Lymphdrüsen enthalten mehrere hirsekorngrosse, harte, verkalkte Knötchen.

Lungen: Im vorderen Lappen der linken Lunge befindet sich ein hühnereigrosser, am oberen stumpfen Rande des hinteren Lappens und im mittleren Lappen der rechten Lunge ein wallnussgrosser Knoten. Die Knoten sind von einer derben, grauen, bindegewebigen Kapsel umgeben. Auf dem Durchschnitte sind die Knoten fächerig, indem von der äusseren Kapsel aus bindegewebige Züge die Knoten durchziehen. Die Fächer sind gefüllt mit graugelbem, käsigem Inhalt.

Die linke Bronchialdrüse ist hühnerei-, die rechte wallnussgross. Auf dem Durchschnitte enthält die linke Bronchialdrüse zahlreiche erbsen- bis haselnussgrosse, die rechte einen erbsengrossen verkästen Knoten. Das Lymphdrüsengewebe ist grau und feucht.

Pathologisch-anatomische Diagnose. Bindegewebiger Knoten mit verkästen, tuberculösen Herden an der Infectionsstelle. Abgekapselte, verkäste, tuberculöse Knoten in den Lungen. Verkäste, tuberculöse Herde in den Bronchial-, Mediastinal- und portalen Lymphdrüsen. Miliare verkäste Knötchen in der Milz.

Aus den angeführten Protokollen geht hervor, dass von den sieben aus tuberculösen Hautveränderungen gezüchteten Culturen fünf auch bei der Prüfung an Rindern als echte Perlsuchtstämme imponirten. Dass die kranken Kälber z. Th. nicht unbedeutend an Gewicht zunahmen, scheint nicht auffällig, da bei guter Pflege junge Rinder ausserordentlich schnell wachsen. Wären die Thiere nicht inficirt gewesen, so würde eine ganz erheblich grössere Gewichtszunahme erfolgt sein. Unter unseren Stämmen zeigten sich drei — 2, $^1/_2$ und $^1/_4$ Jahr im Körper — recht virulent. — Doch auch der älteste Stamm — ca. 8 Jahre im Menschen — war noch im Stande gewesen, eine disseminirte Tuberculose mit miliaren verkästen Knötchen in der Milz herbeizuführen. Dies Resultat stimmt gut überein mit den Ergebnissen der Versuche, die Kossel[1] und seine Mitarbeiter mit menschlichen Tuberkelbacillen anstellten. Die Forscher konnten eine Umwandlung des Typus humanus in den Typus bovinus im Körper des Kaninchens, des Rindes und der Ziege nicht bemerken. Auch Spronck und Hoefnagel[2] berichten von einem Fall, wo zwanzigmonatliches Verweilen im menschlichen Organismus den Rindertuberkelbacillus in seiner Virulenz für diese Thierspecies nicht herabzusetzen vermochte.

Um die relative Harmlosigkeit der Perlsuchtbacillen für den Menschen klar darzuthun, sind die Beispiele von Impftuberculose bei Fleischern kaum

[1] Kossel, Weber und Heuss, Vergleichende Untersuchungen über Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft. *II. Tuberculose-Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1905. Hft. 3.

[2] Spronck u. Hoefnagel, *Semaine médicale.* 1902. Nr. 42.



geeignet. Denn für Infectionen, welche nur die Cutis betreffen, steht auch bei menschlicher Tuberculose in der Mehrzahl der Fälle eine grosse Gutartigkeit fest. Doch weil einige Autoren[1] das häufige Vorkommen der Phthise bei den Anatomiedienern mit der Entstehung von Leichenwarzen in Zusammenhang bringen, so sei beiläufig erwähnt, dass Fleischer trotz Hauttuberculose von Schwindsucht nicht in einem irgendwie auffallenden Maasse heimgesucht werden.[2] Nach einer Statistik von Sieveking[3] über die Tuberculosesterblichkeit in Hamburg fallen von allen angeführten Berufsarten die Fleischer dieser Krankheit sogar am seltensten zum Opfer.

Wenn der Verlauf der rein cutanen Impftuberculose wenig zur Entscheidung der Frage von dem Dualismus des Perlsuchtbacillus und des menschlichen Tuberkelbacillus beiträgt, so ist dies anders bei subcutanen und intramusculären Impfungen. Deren Gefährlichkeit und Tendenz zur Generalisirung steht, was den menschlichen Bacillus anbetrifft, unbestritten fest. Die Mittheilungen aber, welche ein Weiterkriechen des tuberculösen Processes nach Infection mit Perlsuchtvirus berichten, sind recht spärlich. Nach Verletzung der Sehnenscheiden wird einige Male ein Fortschreiten entlang den Scheiden bemerkt. Im Allgemeinen bildet das Characteristicum das Örtlichbleiben der Affectionen. Meistens tritt nach mehr oder weniger geringfügigen chirurgischen Eingriffen völlige Heilung ein, ohne dass die regionären Lymphdrüsen sichtbar in Mitleidenschaft gezogen werden. In der Litteratur können wir zur Zeit nur drei einwandsfreie Fälle finden, die eine Ausnahme machen.

Spronck und Hoefnagel[4] untersuchten die angeschwollene Cubitaldrüse eines Arbeiters, der sich ungefähr 2 Jahre zuvor bei der Section einer an generalisirter Perlsucht gestorbenen Kuh am kleinen Finger verletzt und dort eine Hauttubersulose acquirirt hatte. Sie wiesen in der Drüse wie in der erkrankten Hautpartie spärliche Tuberkelbacillen nach. Ob der Patient lungenkrank war, liess sich mit Sicherheit nicht entscheiden. Zwar hörte man über der rechten Spitze einige feuchte Geräusche, doch war die Körperwärme andauernd normal, und es fanden sich im Auswurf keine Tuberkelbacillen. Uebrigens würde man einen Zusammenhang zwischen Infection und eventueller Lungenkrankheit in diesem Falle schon deshalb nicht behaupten können, da Patient bereits vor seiner Verletzung an einer Pleuritis gelitten hatte.

[1] Vgl. Riehl und Paltauf, Tuberculosis verrucosa cutis. *Vierteljahrsschrift für Dermatologie und Syphilis.* 1886. S. 45.

[2] Heiberg, Die Tuberculosesterblichkeit unter den Schlächtern Kopenhagens in den Jahren 1891-1900. *Zeitschrift f. Tuberculose u. Heilstättenwesen.* **1904.** Bd. V.

[3] H. Sieveking, Die Tuberculosesterblichkeit Hamburgs in den Jahren 1820 bis 1899. *Ebenda.* 1900. Bd. I.

[4] A. a. O.



Krause[1] berichtet von einem Schlachthausarbeiter, der sich im Frühjahr 1899 eine Splitterverletzung am rechten Daumen zuzog und bald darauf eine verendete Kuh abhäutete. Nach einiger Zeit seien Schmerzen im Arm und Drüsenschwellungen, später am Arm Geschwüre aufgetreten, die ärztliche Behandlung erforderten. Krause selbst sah den Arbeiter erst im Jahre 1902, also 3 Jahre nach dem Unfalle. Er war in gutem Ernährungszustande und machte einen gesunden Eindruck. Am rechten Arm fanden sich mehrere lange Operationsnarben, welche gut verschieblich und nirgends mit der Unterfläche verwachsen waren. Unterhalb der rechten Achselhöhle fanden sich spärliche, bohnengrosse, schmerzlose Lymphdrüsen. Am inneren Rande des M. biceps war eine ungefähr mandelgrosse Lymphdrüse vorhanden, welche im Einverständniss mit dem Patienten herausgenommen wurde. Die mikroskopische Untersuchung ergab eine Anzahl Tuberkeln mit Riesenzellen. In einer grossen Zahl von Schnitten konnten nur vier sichere Tuberkelbacillen nachgewiesen werden. An den inneren Organen war etwas Krankhaftes nicht festzustellen.

Troje[2] beobachtete einen jungen Mann, der sich als Fleischerlehrling im Alter von 19 Jahren am 2. Juli 1900 die Haut des linken Unterarmes an dem durchsägten Brustbein eines perlsüchtigen Rindes verletzt hatte. 6 Wochen später traten an der Narbe kleine Pusteln und Anschwellung der cubitalen wie axillaren Lymphdrüsen auf. Der inficirte Lymphknoten am Ellenbogen wurde herauspräparirt, die erkrankte Haut abgetragen und der entstandene Defect durch Aufpflanzen von Hautläppchen nach Thiersch gedeckt. Ein Jahr lang hatte der Patient keine Krankheitserscheinungen aufzuweisen. Dann spürte er beim Anfassen mit der linken Hand einen dumpfen Schmerz im linken Unterarm, und es traten drei kleine distincte Lupusknötchen innerhalb einer gerötheten Randpartie der Transplantationsnarbe auf. Oberhalb der Narbe war eine flache, etwa markstückgrosse Vorwölbung der übrigens normal glatten und weissen Hautdecke nachzuweisen, bei deren Abtastung Troje das Gefühl einer unter der Haut bestehenden Gewebslücke und einer deutlichen Fluctuation erhielt. Er spaltete den Abscess Anfangs September und räumte dann noch die linke Intraclaviculargrube wie die linke Achselhöhle aus, wo sich Packete von erbsen- bis bohnengrossen Lymphdrüsen fanden. Bei der mikroskopischen Untersuchung, deren Einzelheiten im Original nachzulesen sind, bestand im Allgemeinen überall der Eindruck einer hervorragenden Heilungstendenz. Auf eine bezügliche Anfrage Ende

[1] Krause, Ueber einen Fall von Impftuberculose eines Schlachthausarbeiters durch tuberculöse Organe eines Rindes. *Münchener med. Wochenschrift.* 1902. Nr. 25.

[2] Troje, Beitrag zur Frage der Identität der Rinder- u. Menschentuberculose. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 11.



December 1905 hatte Hr. Dr. Troje die Freundlichkeit, wie folgt zu antworten: „Die Untersuchung ergab, dass bei dem blühend aussehenden, mit besonders kräftiger Musculatur ausgestatteten, jetzt 22 jährigen jungen Manne keinerlei weitere Lymphdrüsenschwellung weder in der linken Achselhöhle, noch in der linken Supraclaviculargrube, noch sonst am Halse aufgetreten ist. Auch eine kleine, schon bei seiner Vorstellung im Königl. Institut für Infectionskrankheiten (1902) vorhandene, etwa erbsengrosse, harte Lymphdrüse, die hinter der Mitte des linken Musculus sterno-cleido-mastoideus fühlbar war, hat sich seither in keiner Weise verändert u. s. w. Die Lungen des jungen Mannes sind völlig intact."

Aus den beschriebenen Fällen ersehen wir, dass bisweilen die Perlsuchtbacillen von der Stelle der Verletzung aus in die Lymphdrüsen gelangen. Dies Verhalten entspricht durchaus den Erfahrungen, die Koch[1] und Schütz an Rindern nach der Einimpfung von menschlichen Tuberkelbacillen machten. Auch hier finden sich gelegentlich in den regionären Lymphdrüsen Tuberkelbacillen. Wahrscheinlich handelt es sich um ein mechanisches Verschlepptwerden durch Leukocyten. Ein fortschreitender Krankheitsprocess schliesst sich an den Vorgang jedenfalls nicht an. In der That kennen wir kein Beispiel, wo nach subcutaner Infection mit Perlsuchtbacillen ein Mensch an generalisirter Tuberkulose gestorben wäre. Die Fälle, die angeführt werden, und die immer die gleichen sind, halten einer Kritik nicht Stand. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweisen wir auf Koch's[2] Vortrag gelegentlich der Internationalen Tuberkuloseconferenz zu Berlin. Neues ist seitdem nicht hinzugekommen. Koch's Anschauung, dass der Zusammenhang einer Lungentuberculose mit einer vorhergegangenen Verletzung erst durch die tuberculöse Erkrankung der in Frage kommenden regionären Lymphdrüsen wahrscheinlich gemacht wird, ist durchaus gerechtfertigt. Inficirt sich ein Mensch an der Hand mit Perlsucht und stirbt einige Zeit hinterher an Phthise, so kann man einen ursächlichen Zusammenhang nur dann annehmen, wenn bei der Section in den Cubital-, Axillardrüsen u. s. w. tuberculöse Veränderungen gefunden werden. Fehlen sie, so ist ein Connex nicht vorhanden. Im Hinblick auf die grosse Verbreitung der Schwindsucht scheint es selbst-

[1] R. Koch, Die Bekämpfung der Tuberculose unter Berücksichtigung der Erfahrungen, welche bei der erfolgreichen Bekämpfung anderer Infectionskrankheiten gemacht worden sind. Vortrag, gehalten auf dem Britischen Tuberculosecongress. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 33. — Koch und Schütz, Menschliche Tuberculose und Rindertuberculose (Perlsucht). *Archiv für wissenschaftl. u. prakt. Thierheilkunde.* 1902. Nr. 1—2.

[2] R. Koch, Uebertragbarkeit der Rindertuberculose auf den Menschen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1902. Nr. 48.

verständlich, dass auch dann und wann ein Mensch zu Grunde geht, der eine tuberculös inficirte Wunde an seinen Gliedmaassen trägt oder getragen hat. Bei allen ätiologischen Untersuchungen muss der Procentsatz berücksichtigt werden, in dem unter normalen Bedingungen die Krankheit auftritt, nach deren Ursache wir forschen. Füttern wir z. B. längere Zeit eine grössere Zahl von Hühnern mit perlsüchtigem Fleich, so stirbt wahrscheinlich das eine oder das andere an Hühnertuberculose. Trotzdem wird es uns nie einfallen, diesen Umstand ohne Weiteres mit unserer Fütterung in Zusammenhang zu bringen, wissen wir doch, dass ein bestimmter Procentsatz der Hühner an Geflügeltuberculose einzugehen pflegt.[1] Zur Entscheidung der Frage, ob beim Menschen tödtliche Perlsuchtinfectionen vorkommen, ist es künftig Erforderniss, erstens eine sorgfältige Anamnese aufzunehmen, um ein älteres constitutionelles tuberculöses Leiden auszuschliessen, zweitens durch die Section pathologisch-anatomisch den Zusammenhang zwischen Infection und allgemeiner Krankheit nachzuweisen, drittens die Erreger rein zu züchten und ihre Natur durch das Thierexperiment sicherzustellen. Diese berechtigten Forderungen sind bisher bei keinem der angeblich durch Perlsucht hervorgerufenen Todesfälle auch nur nothdürftig erfüllt.

Dagegen besitzen wir eine grössere Anzahl von Beobachtungen und Experimenten, welche direct beweisen, dass der Mensch für Infection mit Perlsuchtbacillen vom Unterhautzellgewebe aus recht unempfindlich ist. In Königsberg wurden mehr als ein halbes Dutzend Krebskranke mit Perlsuchtculturen, die sich für Kaninchen als hoch virulent erwiesen hatten, subcutan inficirt. Aber obwohl man erhebliche Mengen der Bacillen zu diesen Einspritzungen benutzte, ist doch bei keinem Kranken weder local, noch allgemein irgend etwas von Tuberculose beobachtet worden. Es traten nur abscessähnliche Herde auf, deren Inhalt Anfangs reichlich Tuberkelbacillen erkennen liess; sie heilten allmählich, und die Kranken lebten noch mehrere Monate bis zu einem Jahre. Bei ihrer Obduction fand v. **Baumgarten**[2] an den Impfstellen kleine Narben, welche frei von Tuberkeln und Tuberkelbacillen waren, weder in den den Impfstellen benachbarten Lymphdrüsen, noch in irgend einem der inneren Organe war makro- oder mikroskopisch eine Spur von Tuberculose zu entdecken.

[1] Beiläufig sei hier erwähnt, dass langdauernde, in verschiedenster Weise von mir vorgenommene Versuche, Hühnertuberkelbacillen in Säugethiertuberkelbacillen umzuzüchten, ein durchaus negatives Resultat hatten. Die Untersuchungen sind nicht veröffentlicht, da die Angelegenheit durch die Arbeit: „Die Hühnertuberculose" von **Weber** u. **Bofinger**, *Tuberculose-Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt*. 1904, hinreichend geklärt ist.

[2] v. **Baumgarten**, Ueber das Verhältniss von Perlsucht und Tuberculose. *Berl. klin. Wochenschrift*. 1901. Nr. 35.



In Amerika liess sich Ende 1901 eine Miss King amerikanischen Zeitungen zufolge mit Rindertuberculose am Nacken impfen. Sie bekam einen — mehrfach photographirten — Ausschlag, über dessen Natur wir nichts Authentisches wissen. Als sich das unglückliche Mädchen aus unbekannter Ursache nach Jahresfrist (?) das Leben nahm, wurde bei der von berufener Seite ausgeführten Obduction keine Spur von Tuberculose gefunden.[1]

In aller Gedächtniss ist noch der Mitte 1902 mit so vielem Lärm in Paris unternommene Selbstinfectionsversuch des Dr. Garnault. Er legte sich am 15. Juli auf seinen Arm, der durch ein Blasenpflaster der Epidermis beraubt war, tuberculöse Organtheile einer Kuh. Es traten kleine, oberflächliche Tuberkeln auf. Am 12. September wurde eine Excision gemacht und ein Infectionsversuch an Meerschweinchen, der im Gegensatz zu einem früheren negativ ausfiel. Am 15. Juli brachte sich Garnault ein ungefähr 0·1 ^{grm} schweres Stück perlsüchtigen Materials unter die Haut des Armes. Am 12. November war ein sehr harter, gut begrenzter Knoten[2] zu fühlen, den er sich excidiren liess. Von einer Erkrankung der regionären Lymphdrüsen finden wir nichts erwähnt. Eine Fistel, die vorher bestanden hatte, war zur Zeit der Operation bereits geschlossen. Meerschweinchen, auf die Theile des Knotens verimpft wurden, erkrankten an Tuberculose. Der Verlauf des Garnault'schen Versuches spricht gleichfalls für die relative Unempfindlichkeit des Menschen für die Tuberkelbacillen des Rindes.

Carl Spengler[3] in Davos injicirte sich am 2. Juli 1904 in einer gleichmässig vertheilten Aufschwemmung 0·5 ^{mg} lebender Perlsuchtbacillen subcutan. An der Injectionsstelle bildete sich langsam ein Abscess, der nach ca. einem Monat aufbrach. Im Eiter fanden sich spärliche Tuberkelbacillen. Die Geschwürseiterung hielt 8 Monate lang an und war zeitweise sehr bedeutend, dann schloss sich die Wunde unter Zurücklassung einer stark pigmentirten Narbe. Die regionären Lymphdrüsen waren niemals, auch nicht vorübergehend, schmerzhaft oder geschwollen. „Die Infection blieb vollkommen localisirt und machte einen durchaus gutartigen Eindruck."

Ganz besonders instructiv sind wegen ihrer grossen Zahl die Versuche F. Klemperers.[4] Nachdem er sich zweimal eine Perlsuchtbacillenauf-

[1] *Turf, Field and Farm.* 30. August 1902.

[2] *Le Temps.* 20. December 1902.

[3] C. Spengler, Ein neues immunisirendes Heilverfahren der Lungenschwindsucht mit Perlsuchttuberculin. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 31.

[4] F. Klemperer, Experimenteller Beitrag zur Tuberculosefrage. *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. LVI.



schwemmung in seichte Impfschnitte am Oberarm eingerieben und sie dort hatte eintrocknen lassen, ohne die geringste örtliche Reaction zu erhalten, liess er sich 0·25 ccm einer virulenten Rindertuberkelbacillenaufschwemmung am linken Vorderarm subcutan injiciren. An der Injectionsstelle erfolgte eine lebhafte Entzündung ohne Fieber. Nach wenigen Tagen ging die Entzündung zurück, nach 14 Tagen war noch eine schmerzlose, länglich rundliche Geschwulst von etwa Walnussgrösse vorhanden. Schliesslich blieb nur ein kleines, chronisch entzündliches Infiltrat des Unterhautgewebes, eine entzündliche Schwiele, zurück, die 10 Monate nach der Infection exstirpirt wurde. Bei der mikroskopischen Untersuchung bot das Gewebe nichts für Tuberculose Charakteristisches. Von den in Frage kommenden Lymphdrüsen war nur die linke Cubitaldrüse kurze Zeit etwas angeschwollen gewesen. Einem Collegen, der an Phthisis litt, injicirte Klemperer am linken Arm erst 0·25 ccm, dann 0·5 ccm Rindertuberkelbazillenaufschwemmung subcutan. Da trotz localer Beschwerden relatives Wohlbefinden bestand, und sogar eine geringe Gewichtszunahme eintrat, wurden aus therapeutischen Gründen die Injectionen fortgesetzt. Klemperer machte vom 26. März bis Mitte Mai in halbwöchentlichen Intervallen an den Bauchseiten noch zwölf Einspritzungen von je 0·25 ccm Perlsuchtbacillenaufschwellung. Sie wurden zunächst ausgezeichnet vertragen, denn sie verursachten nur geringe, zum Theil gar keine Anschwellung und Schmerzen und kein Fieber. Nur an der rechten Bauchseite, wo mehrere Injectionen nahe zusammenlagen, bildeten sich eine starke Infiltration und schliesslich ein Abscess aus, der, nicht rechtzeitig incidirt, von selbst aufbrach. Seine Heilung nahm längere Zeit in Anspruch. Die Schuld an dem Abscesse maass Klemperer zum Theil der Nähe der Einstichstellen bei. Da er durch die angeführten Versuche die Ueberzeugung gewonnen hatte, dass subcutan eingespritzte Rindertuberkelbacillen beim Phthisiker zur Resorption kommen, ohne eine acute Reaction hervorzurufen, dass also zwischen ihrer Wirkung beim gesunden und beim tuberculösen Menschen kein Unterschied besteht, behandelte er noch vier weitere lungenleidende Patienten in ähnlicher Weise. „Die localen Beschwerden waren wenig erheblich; viermal entstand ein Abscess, der mehr oder weniger schnell zur Heilung kam; an mehreren Stellen ist eine schwielige Verhärtung im Unterhautgewebe, von den meisten Injectionen jedoch nichts zurückgeblieben. Allgemeinstörungen bestanden in keinem Falle, die Patienten berichteten sogar über subjective Besserung und nahmen zum Theil während der Injectionen an Gewicht zu.“ Hervorzuheben ist, dass Klemperer zu den Einspritzungen nicht etwa immer ein und dieselbe, vielleicht avirulente Perlsuchtcultur, sondern für die Mehrzahl jedesmal neues Virus benutzte. Er tödtete Meerschweinchen,

die mit frischen tuberculösen Rinderdrüsen subcutan am Bauch geimpft waren, nach 3 bis 4 Wochen auf der Höhe der Krankheit, verrieb die etwa bohnengrossen Inguinaldrüsen und ein Stück der von Tuberkeln durchsetzten Milz — zusammen ca. 2 grm Substanz — in der Reibschale gründlich, schwemmte die Masse in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf und filtrirte dann durch einen Gazefilter. Die so gewonnene Flüssigkeit, die bis auf einen reichlichen Gehalt an Tuberkelbacillen keimfrei war, wurde in der Regel in der Dosis von 0·25 ccm (bis 0·5 ccm) zu den Injectionen verwandt. Bei Impfung von 0·05 ccm subcutan gingen Meerschweinchen durchgehends nach 4 bis 6 Wochen an genereller Tuberculose ein. Die Zahl der von Klemperer an sechs Menschen ausgeführten Impfungen beträgt 54.

Ganz anders als der eben geschilderte Verlauf gestaltet sich der, den eine subcutane Impfung mit „menschlichen" Tuberkelbacillen zu nehmen pflegt. An diese Infection schliesst sich in einer grossen Anzahl der Fälle eine progrediente Tuberculose an. Um die bestehenden Unterschiede ins rechte Licht zu stellen, genügt es, hier wenige ausgewählte Beispiele anzuführen. Lindmann[1] sah in zwei Fällen im Anschluss an eine Circumcision an den zum Theil schon geheilten Beschneidungswunden sich Geschwüre mit käsigem Grunde entwickeln. Die rituelle Beschneidung war von einem an Phthisis pulm. leidenden Manne ausgeführt worden, der nach dem in niederen jüdischen Kreisen üblichen Brauch das Blut der Wunde mit dem Mund aufgesogen hatte. Bald darauf kam es bei dem einen Kinde zur Anschwellung der Leistendrüsen, die später abscedirten. Nach scheinbarem Stillstand des Leidens entwickelte sich im dritten Lebensjahre eine Spondylitis dorsalis und eine rasch verlaufende Phthisis pulm. Das andere Kind genas bei geeigneter Therapie, obschon lange eine Anschwellung der Inguinaldrüsen bestand und noch nach Jahresfrist eine Geschwulst am Processus styloid. radii auftrat, bei deren Eröffnung käsige Flocken entleert wurden.

Lehmann[2] sah zehn Kinder bei der Beschneidung in der gleichen Weise inficirt werden; bei allen schwollen nach ca. 3 Wochen die Leistendrüsen an und abscedirten meistens. Ferner zeigten sich verschiedene tuberculöse Herde im Unterhautzellgewebe des Ober- und Unterschenkels, die incidirt eingedickten Eiter entleerten; oder es kam zu intermusculären und parossalen Abscessen in den tieferen Beckenzellgewebsschichten. In drei Fällen, in denen die Leistendrüsen nicht abscedirten, erfolgte der Exitus

[1] Cit. nach J. Löwenstein, Die Impftuberculose des Praeputiums. *Inaug.-Diss.* Königsberg 1889.

[2] Cit. nach Löwenstein, a. a. O.



durch Meningitis tuberculosa. Drei Kinder starben an Marasmus, eins an intercurrenter Diphtherie, nur drei blieben überhaupt am Leben. Bei diesen waren noch mehrere Jahre hindurch Drüsenanschwellungen, die zum Theil wieder aufbrachen, zu bemerken.

E. v. Düring[1] berichtete von einem 14jährigen Mädchen, das 1 ½ Jahre vorher am linken Ohrläppchen tuberculös inficirt war. Das Mädchen stammte aus einer Familie, in der, soweit sich ermitteln liess, Phthise oder tuberculöse Erkrankungen nicht vorgekommen waren. Beim Tode einer an Schwindsucht gestorbenen Freundin erhielt es alsbald deren Ohrringe zur Benutzung. Auf Befragen erfuhr v. Düring, dass jene verstorbene Freundin häufig „am Ohre geblutet und geeitert" habe; Patientin selbst pflegte früher keine zu tragen, obwohl die Löcher dazu vorgebohrt waren. Bald nachdem sie die geerbten Ohrringe angelegt, wurden die Läppchen durch das Tragen wund und secernirten. Ein Geschwür am linken Ohr, das nicht heilen wollte, führte Patientin schliesslich zum Arzt. Der Status war folgender: „Blasses, etwas abgemagertes Mädchen, von gutem Körperbau und für ihr Alter gut entwickelt. Das linke Ohrläppchen zeigte sich mit einem von der Durchbohrungsstelle ausgehenden Geschwür bedeckt, das nicht sehr tief, mit unterminirten Rändern und von schlechtem Aussehen war. An der linken Halsseite sah man eine mit der Haut verwachsene, nicht sehr grosse, derbe Drüse, über der die Haut ulcerirt, mit einem schmutzigen Schorf bedeckt war, nach dessen Entfernung sich ziemlich reichlich dünnflüssiges Secret entleerte. Die Ränder des Geschwürs waren unregelmässig buchtig. Die Untersuchung der Lungen ergab eine Dämpfung der linken Spitze, die vorn schon bis unterhalb der Clavicula reichte, dabei aber auscultatorisch nur spärliche Rasselgeräusche. Eine Untersuchung der mit dem scharfen Löffel entfernten Granulationen und des Sputums ergab die Anwesenheit von Tuberkelbacillen." — Unter den Augen v. Düring's machte die Erkrankung der inneren Organe schnelle Fortschritte. Zur Zeit der Veröffentlichung befand sich Patientin im letzten Stadium der Phthise mit profusen Nachtschweissen, Diarrhöen, abendlichen Temperatursteigerungen bis 40° C.

Ueberblicken wir unsere Ausführungen, so finden wir, dass nach subcutanen Impfungen mit Tuberkelbacillen, die vom Menschen stammen, eine ausgesprochene Neigung zur Generalisirung des Processes das Krankheitsbild beherrscht, während solche vom Rinde keine oder nur locale Schädigungen hervorrufen. Sie bewahren im menschlichen Organismus

[1] v. Düring, Ein Fall von Impftuberculose. *Monatshefte für prakt. Dermatologie.* Bd. VII.

lange Zeit ihre Eigenthümlichkeit und bleiben deshalb in den Lymphdrüsen, in die sie etwa von Leukocyten verschleppt werden, in der Regel unschädlich liegen. Zu den seltensten Ausnahmen gehört es, wenn regionäre Drüsen heftig genug befallen werden, um einen chirurgischen Eingriff wünschenswerth erscheinen zu lassen. Da wir keinerlei Veranlassung haben, zu glauben, dass eine Perlsuchtinfection vom intacten Darmtractus aus leichter erfolgt und schlimmer verläuft, als eine Impfung vom Unterhautzellgewebe, so sehen wir als die Hauptquelle zur Verbreitung der menschlichen Tuberculose einzig und allein den schwindsüchtigen Menschen an, der Bacillen auswirft, und können die Gefahr, die von perlsüchtigem Vieh droht, nur als ganz nebensächlich auffassen.

An dieser Anschauung ändern die Versuchsresultate, die v. Dungern[1] neuerdings veröffentlicht, nichts. Dem Autor gelang es, Gibbons vom Unterhautzellgewebe aus mit Perlsucht in gleicher Weise zu inficiren wie mit „menschlichen" Tuberkelbacillen. Einen Unterschied in der Resistenz gegen die zwei Bacillenarten konnte v. Dungern bei Gibbons nicht feststellen. Hieraus zieht er den überraschenden Schluss, auch der Mensch müsse für Perlsuchtinfectionen leicht empfänglich sein. Schenken wir den zahlreichen Beobachtungen von v. Baumgarten, Spengler, Klemperer u. s. w. die erforderliche Beachtung, so wird sofort klar, dass der Mensch sich eben durchaus anders als der Affe gegen eine Infection mit dem Rindertuberkelbacillus verhält. Mit diesem niedere Affen zu tödten, bietet, wie längst bekannt, keine Schwierigkeit. Einer der ältesten Perlsuchtstämme der Sammlung des Instituts wurde von R. Koch vor ca. 20 Jahren aus einem Affen gezüchtet. Da v. Dungern nun etwas höher stehende Affen inficirte, so geht aus seiner Arbeit als Resultat hervor, dass die Gibbons, auch was die Empfänglichkeit für Infectionserreger anbetrifft, den niederen Affen näher stehen als den Menschen. Schlussfolgerungen, die die Gefährlichkeit der Rindertuberculose für den Menschen behaupten, sind unseres Erachtens nicht gerechtfertigt. So **wünschenswerth und wichtig auch im Interesse der Landwirthschaft alle Maassnahmen zur Ausrottung der Perlsucht sein mögen, eine Herabminderung der menschlichen Tuberculose wird durch sie nicht erzielt werden.**

[1] Frh. v. Dungern, Beitrag zur Tuberculosefrage auf Grund experimenteller Untersuchungen an anthropoiden Affen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1906. Nr. 1.



[Aus der I. deutschen medicin. Universitätsklinik in Prag.]
(Vorstand: Hofrath Prof. Dr. Přibram.)

Ueber verschiedene Arten von Paratyphen und Fleischvergiftungen.

Von

Dr. **Leo Zupnik,**
I. Assistenten der Klinik.

I.

Der Entdecker der Paratyphen, Schottmüller, unterschied bereits in seiner ersten ausführlichen Mittheilung[1] über diesen Gegenstand zwei unter einander verschiedene Erreger dieser Krankheit. Die gefundenen Differenzen betrafen einige culturelle Merkmale und ferner das Verhalten zu specifischen Agglutininen. Brion und Kayser[2] haben dann nach einer vergleichenden Untersuchung der meisten bis dahin beim Menschen gefundenen Paratyphuserreger diesen Befund bestätigt[3] und diese differenten Kleinlebewesen mit den Bezeichnungen „Typus A" und „B" versehen. An Stelle dieser letzteren Benennung, die leicht der unrichtigen Anschauung Raum gewähren könnte, diese beiden „Typen" stellen Varietäten einer und derselben Art dar, haben Zupnik und Posner[4] die Bezeichnung „Schottmüller'sche" und „Brion-Kayser'sche" Art gewählt. Dadurch sollte zum Ausdruck gebracht werden, dass diese beiden

[1] Weitere Mittheilungen über mehrere das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen (Paratyphus). *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVI.

[2] Ueber eine Erkrankung mit dem Befunde eines typhusähnl. Bakt. im Blute. *Münchener med. Wochenschrift.* 1902. Nr. 15.

[3] Näheres in der Publication von Kayser: Die Bakteriologie des Paratyphus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903. Bd. XXXV.

[4] Typhus und Paratyphus. *Prager med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 18.



Arten differente morbi sui generis erzeugen. In der That geht auch heute die allgemeine Ansicht dahin, dass die beim Menschen bis jetzt beobachteten Paratyphen zwei verschiedenartige Krankheiten repräsentiren.

Im Laufe der systematischen, seit Jahren an dieser Klinik geführten Arbeiten wurden unter 27, in vergleichender Untersuchung stehenden, verschiedenen Krankheitsfällen entstammenden Paratyphuserregern[1] drei gefunden, die weder mit der einen noch der zweiten der heute bekannten Arten identisch sind. Es sind dies die Stämme Longcope's „A 215" und „6240" und der Cushing'sche Stamm „O".

Die von uns gefundenen Differenzen betreffen sowohl ihre culturellen Eigenschaften wie die Agglutinationsbefunde und sind so wesentlicher Natur, dass man genöthigt ist, diese drei Stämme als eine neue Paratyphusart zu erklären.

Sie weist in morphologischer, mikrochemischer und cultureller Richtung selbstverständlich alle Eigenthümlichkeiten der Typhusgattung auf.[2] An artfesten, eine Differentialdiagnose gegenüber den zahlreichen übrigen Arten der Typhusgattung ermöglichenden Merkmalen konnte unsere Untersuchung bei dieser neuen Art bis jetzt fünf ermitteln. Vier von diesen arteigenen Eigenschaften sind cultureller Natur.

Vor Mittheilung derselben sei zunächst bemerkt, dass es uns gelungen ist, Nährböden ausfindig zu machen, die eine Differentialdiagnose zwischen beiden heute bekannten Paratyphusarten zu treffen erlauben. Bei Prüfung des Gährvermögens der genannten Paratyphusstämme für Kohlehydrate kamen bei einzelnen Präparaten, von welchen wir hier Dulcit erwähnen möchten, im Verhalten aller Stämme der Schottmüller'schen Art einerseits und der Brion-Kayser'schen andererseits auffallende, wenn auch zunächst nur quantitative Differenzen zum Vorschein. Diese Beobachtung wurde weiter verfolgt[3]; es stellte sich dabei heraus, dass das Zersetzungsvermögen für Dulcit bei beiden in Rede stehenden Arten vom Alkaligehalt des Nährbodens abhängt. Verleiht man dem Nähragar eine gewisse, — starke — Alkaleszenz, dann lassen die Stämme der Brion-Kayser'schen Art den Nährboden unverändert, während diejenigen der Schottmüller'schen Gasbildung bewirken.

Ein zweiter, für die Schottmüller'sche und Brion-Kayser'sche Art differential-diagnostisch brauchbarer Nährboden wurde in der Petruschky'-

[1] Diese 27 Paratyphusstämme sind namentlich in der Tabelle I (S. 519) angeführt. Vgl. auch Anmerkung 1 auf S. 517.

[2] Genau angegeben in der Publikation: „Ueber gattungs-specifische Immunitäts-Reactionen." *Diese Zeitschrift.* Bd. IL.

[3] Mit dieser Untersuchung wurde H. Weiss betraut. Das genauere Resultat derselben wird an anderer Stelle mitgetheilt werden.



schen Lackmusmolke gefunden. Ueber Veranlassung von v. Drigalski hat H. Boit[1] eine grosse Anzahl (200) von Typhusstämmen auf das Verhalten in dieser Nährlösung geprüft. Es stellte sich dabei heraus, dass die Petruschky'sche Molke einen für die Eberth'sche Art artfesten Nährboden darstellt, indem alle geprüften Reinculturen eine dauernde Rothfärbung erzeugten. Diese Boit'sche Angabe haben wir einer Nachprüfung unterzogen. In eine, in Abständen von mehreren Wochen von Kahlbaum (Berlin) bezogene Lackmusmolke wurden zu wiederholten Malen 40 verschiedene Typhusstämme geimpft. In allen Versuchen stellte sich ausnahmslos bei jedem dieser 40 Stämme eine dauernde (Beobachtungszeit: 3 Wochen in 37° C.) Rothfärbung ein.[2] — Nachdem nun die in Rede stehende Eigenschaft der Eberth'schen Bacillen diesen übereinstimmenden Ergebnissen der Boit'schen und unserer eigenen Arbeit zu Folge als artfest sichergestellt war, wurde das Verhalten der übrigen Arten und Stämme der Typhus-, dann der Shiga-Kruse'schen und schließlich der Coligattung einer Prüfung auf diesem Nährboden unterworfen. Ein den Eberth'schen Bacillen völlig gleiches Verhalten, d. h. Rothfärbung zeigten hierbei: zunächst sämmtliche Arten der Shiga-Kruse'schen Gattung; — von den Arten der Typhusgattung: 1. alle Stämme der Brion-Kayser'schen Art, 2. der Gaffky-Paak'sche Fleischvergiftungsbacillus und 3. ein Macfadyean'scher Schweinepestbacillus (Stamm: „Svinefever"); — schliesslich sämmtliche, zur Zeit im Laboratorium vorhandenen 32 Stämme der Coligattung.[3] — Alle übrigen Arten und Stämme der Typhusgattung[4],

[1] *Einfache und sichere Identificirung des Typhusbacillus.* Jena 1905.

[2] Nach Boit lässt die Ebert'sche Art die Lackmusmolke völlig klar. Da dieser Autor diesem Klarbleiben der Molke einen grossen differential-diagnostischen Werth gegenüber „typhusähnlichen" Bacillen beimisst, sei betont, dass alle von uns geprüften Typhusstämme jedes Mal eine, wenn auch sehr geringe, so doch deutliche Trübung erzeugten. Sie ist am leichtesten wahrzunehmen, indem die Eprouvette im durchfallenden Lichte beobachtet und dabei leicht geschüttelt wird: es entstehen in der Flüssigkeit deutliche wolkenartige Streifen.

[3] Die Rothfärbung ist bei diesen letzteren viel lebhafter (ziegelroth) und die Trübung deutlicher, als bei allen vorgenannten Arten. Die Eigenschaften, wie die Provenienz von 27 dieser 32 Stämme sind in der genannten Publikation (*diese Zeitschrift*, Bd. IL) auf S. 455, 509 und 521—525 angegeben.

[4] Aufgezählt in der Publikation: „Ueber gattungs-specifische Immunitäts-Reactionen" auf S. 520 und 521. Dasselbe Verhalten in der Lackmusmolke zeigen ferner die mir gütigst von Hrn. Prof. A. Holst überlassenen Käsevergiftungsbazillen „Backer" und „Stian Erichsen" und ein Kaninchen-Epizootie-Erreger (Stamm „308"), — ferner die Fleischvergiftungs-Erreger „Brügge", „Aertryck" und „Meirelbeck", die ich der Liebenswürdigkeit des Hrn. Dr. Eisenberg in Krakau verdanke und schliesslich die folgenden sechs, aus dem Laboratorium des Hrn. Král in Prag bezogenen Fleischvergiftungs-Erreger: „Gent", „Hatton", „Willebroek", „Sirault", „Chadderton"



und was uns momentan am meisten interessirt, alle unsere 16 Stämme der Schottmüller'schen Art zeigten während einer sich auf 3 Wochen erstreckenden Züchtungsdauer ein unter einander ganz gleiches und vom vorgenannten völlig verschiedenes Verhalten: eine intensive, dauernde, tiefblaue (azurblaue) Verfärbung der Molke.[1]

Die beiden übrigen, eine Differentialdiagnose zwischen der Schottmüller'schen und Brion-Kayser'schen Art ermöglichenden Nährböden können wir zusammen abhandeln: in einem, 1 Procent Erythrit, bezw. 1 Procent Raffinose und 13 Procent Lackmustinctur (Kahlbaum) enthaltenden, leicht alkalischen 2 Procent Nähragar erzeugen sämmtliche Stämme der Schottmüller'schen Art eine Entfärbung (nur die oberste, etwa 1 cm hohe Schicht der Agarsäule behält die ursprüngliche Farbe), während alle Stämme der Brion-Kayser'schen Art den Nährboden in toto unverändert lassen. Auch diese beiden Eigenschaften sind artfest, indem alle von uns geprüften 42 Stämme der Eberth'schen Art in diesen Nährböden eine der Schottmüller'schen gleiche Veränderung erzeugen.

Der Mittheilung von arteigenen Merkmalen der uns beschäftigenden dritten Paratyphusart müssen wir noch eine Correctur vorausschicken: in der bereits genannten Publikation „Ueber gattungs-specifische Immunitätsreactionen" wurde auf Grund von Agglutinationsbefunden eine gewisse Anzahl von Paratyphuserregern zur Schottmüller'schen und eine andere zur Brion-Kayser'schen Art vereinigt. An dieser Gruppirung müssen wir heute eine Aenderung vornehmen: der dortselbst als ein Brion-Kayser'scher Stamm verzeichnete Bacillus „Coleman und Buxton" hat sich im Laufe weiterer Untersuchungen als ein sicherer Eberth'scher Bacillus entpuppt; der Allen'sche Stamm „Euster" zeigte bei späteren Prüfungen mit Paratyphusseris Agglutinationsbefunde der Schottmüller'schen Art und ist als dieser zugehörig zu betrachten.

---

und „Calmphout". Diese zwölf Bakterienstämme zeigen, wie die in der Zwischenzeit vorgenommenen Untersuchungen ergaben, sämmtliche specifischen und nicht specifischen Characteristica der Typhusgattung und sind aus diesem Grunde als dieser angehörig zu betrachten.

[1] Es sei bemerkt, dass diese tiefblaue Endfarbe das allein Charakteristische darstellt; die Rothfärbung schlägt nämlich mitunter, nach längerer Zeit, bei manchen Stämmen der Brion-Kayser'schen Art in die ursprüngliche Farbe um; manchmal wird der Nährboden sogar deutlich violett-bläulich. So giebt denn die Petruschky'sche Lackmusmolke nur eine negative Auskunft. Diese letztere ist aber ganz verlässlich und lautet: erzeugt eine Art der Typhusgattung daselbst während einer Züchtungszeit bis zu 3 Wochen eine dauernde, tiefblaue Färbung, dann ist es weder die Eberth'sche, noch die Brion-Kayser'sche, Gaffky-Paak'sche oder Macfadyean'sche Art. (Vgl. auch die vorangehende Anmerkung.)



Von den in der genannten Publikation angeführten 13 Stämmen der Brion-Kayser'schen Art verbleiben somit folgende 11:

1. der Allen'sche Stamm: „Samuels"
2. „ Schottmüller'sche Stamm: „Barg"
3. „ „ „ : „Müller"
4. „ Johnston'sche „ : „Ballach"
5. „ „ „ : „Milepsky"
6. „ Stamm „Brion-Kayser"
7. „ „ „Gwyn"
8. „ Longcope'sche Stamm: „9060"
9. „ „ „ : „A 215"
10. „ „ „ : „6240"
11. „ Cushing'sche „ : „O".

Die letzten drei, unter 9 bis 11 angeführten Stämme weisen auf den vier eben genannten differential-diagnostischen Nährböden folgendes Verhalten auf:

1. auf dem alkalischen Dulcit-Nährboden = der Brion-Kayser-Art,
2. in d. Petruschky'schen Lackmusmolke = der Schottmüller-Art,
3. in Erythrit-Lackmus-Agar = der Brion-Kayser-Art,
4. in Raffinose-Lackmus-Agar = der Brion-Kayser-Art.

Wir gelangen zur Besprechung der Agglutinationsbefunde der fraglichen drei Stämme.

Die Tabelle I bringt die, bei 25[1] Stämmen von Paratyphuserregern gefundenen obersten Agglutinationswerthe zur Darstellung. Die erhaltenen Titer sind in Agglutinations-Einheiten (Ag.-E.)[2] angeführt. Bezüglich der Technik sei hier nur so viel bemerkt, dass wir seit 3 Jahren nur makroskopisch arbeiten und 8 Stunden lang beobachten; genaue technische Angaben und ihre ausführliche Begründung enthält die aus dieser Klinik hervorgegangene Veröffentlichung von Kafka.[3]

An Blutseris enthält die Tabelle I: 13 Paratyphensera und zwar 7 Kaninchen-Immun- und 6 Krankensera, deren Träger alle an Schottmüller'schem Paratyphus erkrankt waren.

---

[1] Die Stämme: Allen „Samuels" und Cushing „O" wachsen in Bouillon in Flocken oder bilden daselbst beim längeren Stehen Häufchen (spontane Agglutination) und mussten aus diesen Gründen von Agglutinationsprüfungen ausgeschlossen werden.

[2] Eine Ag.-E. = positive Reaction im Verhältniss 1 : 40 bei einer Beobachtungszeit von 8 Stunden.

[3] Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905 u. 1906. Bd. XL.



Betrachten wir zunächst das beim Immunserum des Stammes „Brion-Kayser“ erhaltene Resultat. Die höchsten Titer weisen 7, als Brion-Kayser'sche Art zusammengefasste Stämme auf. Die Longcope'schen Stämme „A 215“ und „6240“ wurden so gut wie überhaupt nicht, diejenigen der Schottmüller'schen Art nur in geringem Grade agglutinirt. Bei den bestagglutinablen Stämmen der Schottmüller'schen und Brion-Kayser'schen Art stellt sich das Titerverhältniss gleich 1:25 und bei den am schlechtesten agglutinablen gleich 1:80; bei den Arten „Brion-Kayser“ und den beiden Longcope'schen Stämmen 1:1000, bezw. 1:80.

Das Immunserum des Longcope'schen Stammes „A 215“ weist ganz andere Resultate auf. Das Titerverhältniss dieser zu der Brion-Kayser'schen Art stellt sich gleich 1 : mehr als 800, bezw. 1 : mehr als 100.

Hiermit glauben wir den Beweis erbracht zu haben, dass die beiden Longcope'schen Stämme „A 215“ und „6240“ von den sieben als Brion-Kayser'sche Art zusammengefassten verschieden und unter einander identisch sind.

Die Zutheilung des Cushing'schen Bacillus „O“ zu dieser Paratyphusart, für welche wir den Namen „Longcope'sche“ vorschlagen möchten, bedarf einer Erläuterung. Es wurden nämlich die in der Tabelle I verzeichneten Titer des „Brion-Kayser'schen“ Serums schon in einer früheren Publikation[1] angeführt und dortselbst der oberste Werth für den Cushing'schen Stamm mit 900 Ag.-E. angegeben. Auf derselben Seite befindet sich jedoch bei acht weiteren Immunseris die Bemerkung, dass der Titer für den Cushing'schen Bacillus nicht ermittelt werden konnte, weil dieser Stamm entweder in Flocken wuchs oder während der Beobachtungszeit spontan agglutinirte. In der Folgezeit wiederholte sich dieser störende Befund so oft, dass wir bei weiteren Untersuchungen auf die Prüfung des Cushing'schen Stammes von vornherein verzichtet haben. Die im Laufe der Jahre gemachten Erfahrungen haben uns des Ferneren belehrt, dass Agglutinationsbefunde bei Stämmen, die des öfteren spontan agglutiniren auch an jenen Versuchstagen, an welchen die Controlproben bis zum Ablauf der Beobachtungszeit gleichmässig trüb erscheinen, nur mit grösstem Misstrauen aufzunehmen sind. Aus diesen Gründen müssen wir den in Rede stehenden, beim Stamme „Cushing“ vor 3 Jahren erhobenen Befund als sehr zweifelhaft betrachten. Eine einwandsfreie Entscheidung über die Artnatur solcher Stämme können nur hochwerthige, d. h. nach unserer Auffassung mindestens einige Hundert artspecifische Ag.-E. aufweisende Sera bringen.

[1] *Diese Zeitschrift.* 1905.

Art	Nummer	Stamm	Kaninchen-Immunsera: Longcope'sche Art: Cushing I	Cushing II	A. 215	Br.-K.: Brion-K.[1]	Schottmüller'sche Art: Schottm.[1]	Patienten-Sera: Schottmüller'sche Art: Schottm.[1]	„Kazda"[1]	Zaba[1]	Lahodny	Svoboda	Winter-blum	Goldberger	„Kokes"
Schottmüller'sche	1	„Schottmüller"	5	20	50	40	120	1000	400	2400	300	200	200	40	2000
	2	Schottmüller „Seemann"	5		100	40		5	200	+4000	400	300			1800
	3	„ „Krenzin"		30	20	5		160	160	2000		200		40	700
	4	„ „Thot"		5	10	10		400	200	2400		200	400	20	1000
	5	„ „Köcher"			20	1	5	160	+ 50	1600		50	50	10	500
	6	Eig. St. „Janda"		10	80	5	20	+100	200	2400		25	200		1800
	7	„ „Kazda"		10	40	5	5	200	1000	2800	+100	50	100	40	800
	8	„ „Burger"		3	40	1	5	120	+ 50	3200	100				1200
	9	„ „Wagner"		10	20	5	20	120	100	1200		50	50	40	800
	10	„ „Svoboda"		5	40								200	40	1200
	11	„ „Winterblum"		5	40								100	10	500
	12	Stamm „Hühnermann"		ø	ø	50	30	+ 50	600	2000		+50		20	2000
	13	„ Achard „W"		20	20	10	10	160	i. Fl.	2400		50	200		2400
	14	„ „ „B"		5	40	1	50	+ 80	+ 50	2400		50	100	20	3200
	15	„ „Widal et Nob."		10	20	2	5	160	100	1600		50	100	10	700
	16	„ Allen „Euster"		3	20			ø	5	1		100	100	10	600
Brion-Kayser'sche	1	Stamm „Brion-Kayser"	ø	5	10	1000	ø	ø	3	5	5	10		ø	ø
	2	„ Schottm. „Barg"	10	1	ø	160		ø	3		1	20	1	ø	ø
	3	„ „ „Müller"		ø	ø	200		ø	3	ø		— 2	2	ø	ø
	4	„ Johnston „Ballach"		3	3	80			5			— 2	1	ø	ø
	5	„ „ „Milepsky"		ø	ø	300	ø	ø	5	1		— 2	1	ø	ø
	6	„ Gwyn	ø	ø	ø	900		ø	3	3		— 2	ø	ø	ø
	7	„ Longcope 9060		ø	ø	700	ø	ø	3	ø		— 2	1	ø	ø
Longcope'sche	1	Stamm Longcope A 215	10	120	800	ø			10		2	10	10	ø	ø
	2	„ „ 6240	20	120	+1000	1	1	ø	20	5	5	5	10	ø	ø

[1] Bereits publicirt (*diese Zeitschrift*, 1905, Bd. IL. S. 520). Das Zeichen + = mehr als, — = weniger als.

Ein derartiges Immunserum konnten wir bis jetzt mit dem Cushing'schen Stamme nicht erlangen. Immerhin erlauben die bei beiden Cushing'schen Immunseris (I und II) erhaltenen Resultate die Behauptung, dass auch dieser Paratyphusstamm höchst wahrscheinlich der Longcope'schen Art angehört.

In die Tabelle I wurden ausser den bereits genannten noch neun Schottmüller'sche Sera aufgenommen. Sechs derselben wurden von kranken Menschen gewonnen. Da es laut übereinstimmenden Befunden aller Autoren als sicherstehend angesehen werden kann, dass hochwerthige Krankensera in ihrer Wirkungsweise thierischen Immunseris vollkommen gleichen, erhellt bei zusammenfassender Betrachtung der, in der Tabelle I bei allen drei Arten von Paratyphusseris gefundenen Werthe auf den ersten Blick, dass eine Differentialdiagnose zwischen den einzelnen Paratyphusarten durch Ermittelung des obersten Agglutinationstiters mit Bestimmtheit gestellt werden kann.

II.

Die vor längerer Zeit stattgefundene Feststellung der Gattungs-Specificität der Agglutination hat der damals allgemein geübten Agglutinationsdiagnostik mit einem Schlage alle Beweiskraft genommen und die Nothwendigkeit gezeitigt, nach neuen diagnostischen Methoden zu suchen. Als eine solche diagnostisch verlässliche Methode wurde vor mehr als 3 Jahren von Zupnik und Posner[1] die Ermittelung des Agglutinationstiters für die bekannten Erreger typhoider Erkrankungen gefunden. In Bezug auf Typhus und Paratyphus wurde zu gleicher Zeit dieselbe Ansicht von Kayser[2] geäussert. Kayser hat dann diese seine Behauptung auf Grund einiger, ihr widersprechender Befunde bei Typhuskranken zurückgezogen.[3] Zur selben, die diagnostische Verlässlichkeit des Agglutinationstiters negirenden Ansicht gelangten ausser Kayser auch Brion[4], Conradi[5], Jürgens[6] und schliesslich Grünberg und

[1] *Prager med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 18.

[2] Ueber den Paratyphus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 18.

[3] Ueber den Typus A des Bact. paratyphi, Typhusserumerfahrungen und zur Mischinfectionsfrage. *Ebenda.* 1904. Nr. 49. S. 1803.

[4] Beitrag zur Paratyphuslehre. *Ebenda.* 1904. Nr. 22. Vereinsbeilage. S. 828.

[5] Ueber Mischinfection durch Typhus- und Paratyphusbacillen. *Ebenda.* 1904. Nr. 32. S. 1165.

[6] Zur Ätiologie und Pathogenese des Abdominaltyphus. *Zeitschrift für klin. Medicin.* 1904. Bd. LII.



Rolly.[1] Es fehlt sogar nicht an Autoren, — wir nennen hier Namen wie Jürgens[2], v. Drigalski[3] und Kayser[4] — welche nicht nur dem Agglutinationstiter, sondern der Agglutination als solchen jegliche ätiologisch verwerthbare Deutung absprechen. An dieser bedenklichen Sachlage ändern die vor kurzer Zeit erschienenen Publikationen von Korte-Steinberg[5] und Manteufel[6] nichts, obzwar diese Autoren unsere Eingangs citirte Behauptung nach der diagnostischen Verwerthbarkeit des Agglutinationstiters bestätigen. Manteufel kam nämlich nicht in die Lage, die differential-diagnostische Zuverlässigkeit desselben prüfen zu können, indem er ausschliesslich Typhussera untersuchen konnte. Korte und Steinberg hatten unter ihrem Material ausser Typhen auch Paratyphen; sie konnten durch die Ermittelung des Titers die Differentialdiagnose treffen, indem in jedem ihrer Fälle der artspecifische Titer die höchsten Werthe aufwies. Dies wäre ein Beweis für die diagnostische Zuverlässigkeit desselben; nun haben aber wir selbst im Laufe der Zeit Beobachtungen gemacht[7], die jenen von Brion, Jürgens und Kayser gleichen.

Die Ermittelung des Agglutinationstiters allein beseitigt demnach die diagnostischen Schwierigkeiten nicht in allen Fällen, oder mit anderen Worten, es genügt die absolute Zahl als solche — der Titer — zur Differentialdiagnose nicht.

Diese Möglichkeit wird uns durch die Kenntniss der **Agglutinations-Eigenthümlichkeiten** der Blutsera einzelner typhoider Erkrankungen gegeben. In der vor einem Jahre erschienenen Publikation von Güttler[8], des Ferneren in der im IL. Bande dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit wurde diese Thatsache bereits kurz gestreift und in

[1] Beitrag zur Frage der agglutinirenden Eigenschaften des Serums Typhuskranker auf Paratyphus und verwandte Bakterien. *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 3. S. 105. — Zur ätiologischen Diagnose des Abdominaltyphus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 34. S. 1233.

[2] Beobachtungen über die Widal'sche Reaction und die Mitagglutination der Typhoidbacillen. *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLIII. S. 372.

[3] Ueber Ergebnisse bei Bekämpfung des Typhus nach Robert Koch. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904. Bd. XXXV. S. 776.

[4] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 49.

[5] Ueber die agglutinirende Wirkung des Serums von Typhuskranken auf Paratyphusbacillen nebst Bemerkungen über die makrosk. und mikrosk. Serodiagnostik. *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 21. S. 985.

[6] Erfahrungen mit der Gruber-Widal'schen Reaction bei Berücksichtigung der Mitagglutination von Paratyphusbacillen. *Ebenda.* 1905. Nr. 28. S. 1329.

[7] Eine ausführliche Mittheilung darüber ist in der *Deutschen med. Wochenschrift,* 1905, Nr. 44, erfolgt.

[8] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 51 u. 52.



der eben genannten Publikation in der „Deutschen med. Wochenschrift“ des Genaueren ausgeführt.

Die daselbst niedergelegten Anschauungen beziehen sich indess bloss auf drei typhoide Processe des Menschen: die Eberth'sche, Schottmüller'sche und Brion-Kayser'sche Krankheit. Ausser diesen haben wir soeben eine vierte gattungsverwandte Affection: die Longcope'sche kennen gelernt; wie des Genaueren in der Publikation „Ueber gattungsspecifische Immunitätsreactionen“ angeführt, kommen beim Menschen noch mindestens drei artverschiedene typhoide Fleischvergiftungen und die Psittakose vor; an gattungsverwandten, in ihrer Zahl und Art noch völlig unerforschten, typhoiden Seuchen leiden auch Thiere. Nun erheben sich die praktisch, wie theoretisch gleich bedeutungsvollen Fragen nach den Beziehungen dieser einzelnen Krankheitsprocesse des Menschen und dann der Thiere unter einander und schliesslich beider zu einander. Praktisch sind sie von so hoher Bedeutung, weil von ihrer Kenntniss die richtige Diagnose und Prophylaxe und in der Zukunft eventuell auch die Therapie abhängig ist; — theoretisch hingegen, weil sie uns in die Lage versetzen kann, jene Thatsachen näher zu ergründen, welche den Inhalt des „ätiologischen Korrelationsgesetzes“ [1] ausmachen und ferner einen Einblick in die Structur des agglutinogenen Apparates der betreffenden Bakterien zu gewinnen.

Diese wechselseitigen Beziehungen der genannten typhoiden Krankheitsprocesse der Menschen und Thiere wollen wir nun im Folgenden erörtern. Wir beschränken uns hierbei nur auf eine Seite der Frage: die diagnostische, und in ihr selbst allein auf die Agglutinationsbefunde. Unsere Darstellung ist allgemeiner Natur.[2]

Die Agglutinationstiter, welche bei einer grösseren Anzahl von Immunseris verschiedener Erreger typhoider Erkrankungen erhoben worden sind, finden sich in der Tabelle II zusammengestellt. Die daselbst angeführten Stämme bezw. Arten der Typhusgattung stellen nur einen Theil jener dar, die sich in Untersuchung befinden; es haben daselbst auch nicht alle bereits geprüften Immunsera Aufnahme gefunden: die Tabelle erhält nur solche Befunde, die auf Grund einer sorgfältigen, des Oefteren wiederholten Prüfung als völlig einwandsfrei und sicherstehend betrachtet werden können.

Die gefundenen Titer sind hier ebenfalls in Ag-E. ausgedrückt. Bei der Eberth'schen, Schottmüller'schen und Brion-Kayser'schen Art

[1] Zupnik, *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. IL. S. 479.

[2] Eine genauere, in Einzelheiten gehende Abhandlung der Agglutinations-Eigenthümlichkeiten jeder der hier erörterten Arten wird später in einem anderen Zusammenhange erfolgen.



Art des Serums:		Eberth		Brion-Kayser	Schottmüller			Holst					Longcope	Preisz	Gärtner			Wesenberg
Bakterien-Art	Immunis.-Stamm	„Tuna"[1]	Colemann u. Buxt.	„Brion-Kayser"[1]	„Kazda"[1]	Pat.-Ser. „Zaba"	Pat.-Ser. „Kokes"	„Kaensche" Ia	„Kaensche" Ib	„Kaensche" II	„Günther"	Suipest „Höchst"	„Azis"	Suipest „Preisz"	„Gärtner"	„de Nobele"[1]	„Dysent. vitulor."[1]	„Wesenb."
I.	Eberth'scher Bacillus	5000	1600	50	60	5	5	10		10	8	10	1	20	10	+100	200	ø
II.	Brion-Kayser- „	75	5	1000	20	5	ø	40		30	ø	2	3	10	ø	50	20	ø
III.	Schottmüller- „	4500	4	50	1000	+4000	3200	+1800	2400	400	120	100	60	120	120	20	20	ø
IV.	Kaensche- „	1400	3	2		5	10	600	800	200	200	500	500	200	20	10	10	ø
	Gaustad- „	5	3	2		40	10		3200	300	700	800	600	400	60	20	10	ø
	Psittacosisb. Pasteur	200	5	50	+50	20	10		1600	300	160	400	400	200		50	60	ø
	„ Nocard		3				30	1200	1600	100	100	400	400	100	20			ø
	Günther-Bacillus		3	5		10	5		2800	200	200	100	400	100	ø	5	ø	ø
	Fleischverg. „Brüx"		3				ø			400	400	100	800	400	20	40	20	ø
	B. suipest „Höchst"		3				5		1600	100	80	500	200	200	60			ø
V.	„ „Preisz"	50	3	2		20	20	1600	1600	300	300	600	700	300	3	5	3	ø
VI.	Longcope A 215		ø	ø	10		ø	10		30	10	20	800	5	120	20		ø
	„ 6240		ø	1	20	5	ø	80		30	10	20	+1000	ø	120	ø	3	ø
VII.	Gärtner-Bacillus	400	5	ø		3	5		50	50	10	ø	3	5	400	600	3200	ø
	Morseeler „	300		40		10	ø	50	−25	50	10	ø	20	20	100	800	3200	ø
	de Nobele- „		5	10		5	3	25	25	30	20	ø	5	10		4000	8000	ø
	Abel- „	100	10	30	10		5	5	5	10	3	3	3	20	100	1600	10000	ø
	Fischer „Rumfleth"	200		10	5	5	3	2	5	5	3	3	3	20	100	1000	6000	ø
	B. dysent. vitulorum	200		40		5	5			50	80	3	1	20	600	spont.	10000	ø
	Issatschenko-B.	+ 5		5		3	40		10	10	10	3	5	5	600	50	3600	ø
VIII.	Wesenberg-B.		1			ø				ø	ø	1	10	ø	ø			600

[1] Bereits in Bd. II. *dieser Zeitschrift* publicirt.

wurde bei jedem Serum eine grössere Anzahl, oft alle, im Laboratorium vorhandenen Stämme geprüft. Die in die Tabelle aufgenommenen Titer stellen den höchsten von denen dar, welche bei Prüfung aller im Laboratorium vorhandenen Stämme jeder einzelnen Art gefunden wurden; die Tabelle demonstrirt demnach das Agglutinationsverhalten der bestagglutinablen Stämme der betreffenden Arten.

Die Provenienz der angeführten Bakterien ist aus der Publikation „Ueber gattungs-specifische Immunitätsreactionen" zu ersehen. Der Bacillus „Brüx" wurde bei einer Fleischvergiftungsepidemie isolirt, die im Jahre 1905 in der gleichnamigen Stadt Böhmens ausgebrochen war und die ich, Dank der Liebenswürdigkeit des Landes-Sanitäts-Referenten, Hrn. Hofrath Dr. J. Pelc, zu untersuchen Gelegenheit hatte.

An Blutseris enthält die Tabelle II drei menschliche Paratyphussera der Schottmüller'schen Art; alle anderen stellen Kaninchen-Immunsera dar.

Die drei in der Tabelle verzeichneten „Kaensche"-Sera bedürfen einer Erläuterung: das mit „I" bezeichnete wurde zu Ende des Jahres 1903 fertiggestellt. Die im Januar 1904 bei demselben ermittelten Titer sind unter „Ia" ersichtlich. Das in der Tabelle verzeichnete Resultat hat uns, da wir zu jener Zeit die Agglutinations-Eigenthümlichkeiten nur weniger Arten gekannt und daran festgehalten haben, dass, wenn auch nicht der stammeigene, so doch wenigstens der arteigene Titer die höchsten Werthe aufweist, derart überrascht, dass wir glaubten, es auf einen Versuchsfehler beziehen zu müssen; — ja, wir dachten sogar an die, bei unserem vorsichtigen Vorgehen kaum anzunehmende Eventualität, es bekam das „Kaensche"-Thier im Laufe der langdauernden Immunisirung einmal irrthümlicher Weise einen Stamm der Schottmüller'schen Art injicirt. Das Serum wurde aufgehoben und ein anderes Thier mit demselben Stamme immunisirt. Der Agglutinationsbefund war wieder qualitativ derselbe (Serum: „Kaensche II"). Nun wurde im März des Jahres 1905 das sterile, bis dahin im Eisschrank gehaltene Serum „I" abermals titrirt. Die diesmal gefundenen Werthe sind in der Rubrik „Ib" angeführt.

Die tiefschwarzen Umrandungen von Zahlen und Zahlengruppen bezeichnen jene Befunde, welche im Folgenden der bildlichen Darstellung der Agglutininstructur einzelner Serumarten zu Grunde gelegt wurden. Die Umrandung dient noch einem anderen Zwecke: sie soll dem Beurtheiler anzeigen, dass die ausserhalb dieser Linien liegenden hohen Titer keinen constanten Befund darstellen. Es sei hier daran erinnert, dass wir nicht die Gattungsspecificität der Agglutination, sondern gewisse Agglutinations-Eigenthümlichkeiten mancher Serumarten demonstriren wollen und dass diese Tabelle nur die Titer der bestagglutinablen Stämme



enthält. So wurde z. B. beim Serum „Preisz" der für die Schottmüller'sche Art gefundene höchste Werth von 120 Ag.-E. eliminirt, obzwar sich innerhalb des Rahmens niedrigere befinden. Dies geschah aus dem Grunde, weil andere Stämme der Schottmüller'schen Art von demselben Serum in zumeist viel niedrigeren Werthen, bis zu 5 Ag.-E. herab, agglutinirt wurden. Aehnlich liegen die Verhältnisse beim Typhusserum „Tuna". Der Titer dieses Serums für die Schottmüller'sche Art ist mit 4500 Ag.-E. verzeichnet; in dieser Höhe wurde unter sieben Stämmen nur der Paratyphusstamm „Kazda" agglutinirt; für einen anderen, den Hühnermann'schen, hatte dasselbe Serum nur 20 Ag.-E.

Die Erörterung einzelner, in der Tabelle II verzeichneter Befunde können wir unterlassen: die Zahlen führen eine hinreichend klare Sprache.

Wenn wir nun die einzelnen Arten mit dem Anfangsbuchstaben der Autoren, deren Namen sie führen und den artspecifischen Antheil des Agglutinins mit demselben kleinen Buchstaben bezeichnen, so liesse sich bildlich die Structur des Agglutinins bei jeder Serumart durch eine Reihe von kleinen Buchstaben darstellen. So würde sich z. B. um zwei Extreme herauszugreifen, die beim Serum „Kaensche II" gefundene Structur als „***Kesblhgw***" und beim Serum „Wesenberg" als „***Ww***" gestalten. Auch die quantitativen Verhältnisse könnten in dieser Formel Aufnahme finden, indem man bei jedem Artantheile jene Zahl anbringt, welche das gegenseitige Titerverhältniss anzeigt. Indess wäre diese Darstellungsweise schon, von ihrer Komplicirtheit abgesehen, vor Allem aus dem Grunde ganz werthlos, weil verschiedene Stämme derselben Art einerseits demselben Serum gegenüber eine differente Agglutinabilität zeigen und andererseits, weil sie individuell verschiedene Sera liefern. Alle diese Zufälligkeiten in Agglutinationsbefunden spielen sich jedoch, was ganz besonders betont werden muss, in gewissen fassbaren Grenzen ab. Die Prüfung vieler stamm-verschiedener Sera derselben Art und Untersuchung einer möglichst grossen Anzahl von verschieden agglutinablen Stämmen einzelner Bakterienarten erlaubt, und auch das geht aus der Tabelle II klar hervor, diese Zufälligkeiten mit Bestimmtheit auszuschalten. Wählt man nun für die Darstellung der Agglutininstructur nur jene Befunde, denen auf Grund der soeben erwähnten sorgfältigen Prüfung nichts Zufälliges anhaften kann, dann gelangt man zu völlig verlässlichen, einfachen und praktisch werthvollen Vorstellungen. Die bildlichen Darstellungen derselben werden jenen Anforderungen, wie sie die Theorie bezüglich der Structur der Agglutinine stellt, selbstverständlicher Weise nicht genügen; — dafür aber werden sie das praktisch-diagnostisch Wichtige: das gegenseitige Verhältniss der obersten Titer bei gattungsverwandten Seris in klarer Weise zum Ausdruck bringen.

Von diesem Gesichtspunkte aus lässt sich die Agglutininstructur und in Folge dessen die Agglutinations-Eigenthümlichkeiten einzelner Blutsera folgendermaassen darstellen:

Für die	Eberth'sche Art		= *Ee*(*sb*)
„ „	Brion-Kayser'sche Art		= *Bb*
„ „	Schottmüller'sche	„	= *Ss*
„ „	Longcope'sche	„	= *Llhp*
„ „	Holst'sche	„	= *Hhsp*
„ „	Preisz'sche	„	= *Pph*
„ „	Gärtner'sche	„	= *Gg*
„ „	Wesenberg'sche	„	= *Ww*

Diese Zeichensprache bringt Folgendes zum Ausdruck:

Weist ein in Untersuchung stehendes Blutserum bei Prüfung aller in Betracht kommender Bakterienarten der Typhusgattung die höchsten Titer (gut agglutinable Stämme vorausgesetzt) nur für die Brion-Kayser'sche, Schottmüller'sche, Gärtner'sche oder Wesenberg'sche Art auf, d. h. ergiebt die Ermittelung der Titer im Agglutinin des Serums ein isolirt stehendes „*b*", „*s*", „*g*" oder „*w*", dann kann dieses Serum, dem Voranstehenden zu Folge nur ein *Bb*, *Ss*, *Gg* bezw. *Ww*-Serum darstellen.

Anders liegen die Verhältnisse bei den übrigen Seris.

Die Agglutinations-Eigenthümlichkeiten der Eberth'schen Sera, die in überaus seltenen Fällen noch einen „*b*"- oder „*s*"-Antheil enthalten, wurden bereits, wie oben erwähnt, in einer eigenen Mittheilung abgehandelt. Hier sei nur so viel bemerkt, dass gleiche bezw. etwas höhere Titer Eberth'scher Sera für Schottmüller'sche oder Brion-Kayser'sche Bacillen nur in einem geringen Bruchtheile der Fälle vorkommen und dass auch dann die Berücksichtigung des „*Ss*" bezw. „*Bb*" eine sichere Diagnose zu stellen erlaubt, indem — wie wir auf Grund einer Untersuchung von rund genommen 300 Typhusfällen und 21 Schottmüller'schen Paratyphen mittheilen können — das diagnostisch ungünstigste Titerverhältniss bei Typhen 1:weniger als 2 und bei Schottmüller'schen Paratyphen 1:mehr als 8 beträgt.[1]

Die Longcope'schen Sera enthalten, wie aus „*Llhp*" ersichtlich, in ihrem Agglutinin die grössten und gleichstarken Antheile für die eigene, die Holst'sche und die Preisz'sche Art. Weist nun ein in Untersuchung stehendes Serum für alle diese Arten die gleichen höchsten Titer auf, dann kommen die drei correspondirenden Bakterienarten als Ätiologie

[1] Vgl. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 44.



der Krankheit in Betracht. Welche Art thatsächlich im Spiele ist, lässt die Kenntniss der Agglutinations-Eigenthümlichkeiten jeder der correspondirenden Serumarten entscheiden; Holst'sche und Preisz'sche Sera besitzen, wie aus „*Hhsp*“ und „*Pph*“ zu entnehmen, die Eigenschaft nicht, für alle drei in Frage stehenden Bakterienarten zugleich die höchsten Titer aufzuweisen; ein gleichstarker Antheil „*l*“ geht diesen Seris ab, der Erreger des fraglichen Krankheitsprocesses kann demnach nur der Longcope'schen Art entsprechen.

Bei den beiden, nun verbleibenden Seris ist eine Differentialdiagnose auf Grund des Agglutinationsbefundes bei dem heutigen Stande unseres Wissens nicht möglich.

Weist ein fragliches Serum, bei Prüfung verschiedener Arten der Typhusgattung die höchsten und gleichen Titer für den Schottmüller'schen, Holst'schen und Preisz'schen Bacillus auf „*Hhsp*“, dann sind wir, da Schottmüller'sche Sera nur den „*s*“-Antheil enthalten („*Ss*“), das Preisz'sche hingegen auch das „*h*“ besitzt, in der Lage, nur den Schottmüller'schen Bacillus als Krankheitserreger auszuschliessen. Es ist nun eine Differential-Diagnose zwischen dem Holst'schen und Preisz'schen Bacillus zu treffen. Auf dem Wege der Agglutination ist sie heute nicht möglich. Vielleicht wird das noch im Gange befindliche Studium der Agglutinations-Eigenthümlichkeiten anderer Arten der Typhusgattung uns auch diese Möglichkeit verschaffen. Momentan kann die Entscheidung nur durch culturelle Untersuchungen getroffen werden, indem der Preisz'sche Bacillus im Gegensatze zu allen in der Tabelle II verzeichneten Stämmen der Holst'schen Art, Lävulose, Rhamnose, Dextrin und Galaktose nicht vergährt.[1] Möglich ist diese culturelle Untersuchung natürlicherweise nur dann, wenn man den Krankheitserreger ausfindig machen konnte. — Wie werthvoll sich die Kenntniss der Agglutinations-Eigenthümlichkeiten unter gegebenen Umständen zu gestalten vermag, beweisen unsere letzten, gelegentlich der genannten Fleischvergiftungsepidemie gemachten Erfahrungen. An Ort und Stelle der Epidemie konnten nur die Ficker'schen Diagnostica für Typhus, den Schottmüller'schen und Brion-Kayser'schen Paratyphus mit Krankenseris geprüft werden. Das Diagnosticum „*B*“ wurde in hohen Verdünnungen agglutinirt. Dieser

[1] Aus diesem Grunde wurde der Preisz'sche Bacillus als eine selbständige Art der Typhusgattung bezeichnet. Durch diesen culturellen Befund hat auch — da wir hier mit „artfesten“ Eigenschaften zu thun haben — die in der Publikation „Ueber gattungs-specifische Immunitätsreactionen“ (S. 536) geäusserte Vermuthung, wonach die Schweinepest keine einheitliche Aetiologie besitzt, sondern mehrere, dem ätiologischen Correlationsgesetz zufolge, innerhalb der Typhusgattung liegende Bakterienarten zu Krankheitserregern hat, eine wichtige Stütze gewonnen.



Umstand erlaubte die bis dahin ätiologisch völlig unklare Epidemie zunächst als eine „typhoide" Erkrankung zu diagnosticiren. Im Laboratorium zeigte es sich dann, dass alle entnommenen Krankensera für die Bacillen von Schottmüller, Kaensche, Günther, Pasteur, Nocard, Preisz, dann die Stämme „Gaustad" und Schweinepest „Höchst" die gleichen höchsten Titer aufweisen. Einen Paratyphus konnten wir, trotzdem manche Autoren die Identität von Fleischvergiftungen mit Paratyphen behaupten, nach Berücksichtigung des „*Ss*" sicher ausschliessen. Als wir dann nach längerer Zeit den Erreger rein zu züchten vermochten, zeigte es sich, wie dies aus der Tabelle II hervorgeht, dass unsere Annahme zu Recht bestand.

Ebenso wie bei „*Hhsp*" lässt sich heute bei Seris, deren oberste Titer den Befund *Php* ergeben, die Differentialdiagnose zwischen dem Holst'schen und Preisz'schen Bacillus nicht treffen. Auch hier kann momentan nur die culturelle Prüfung entscheiden.

Unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete sind noch im Ausbau begriffen. Wir beabsichtigen auch nicht dogmatische Wahrheiten zu verkünden, sondern nach Möglichkeit zur Lösung dieser so wichtigen und interessanten Fragen beizutragen und so glauben wir denn auf Grund unserer, sowohl in der vorliegenden Mittheilung wie im 49. Bande dieser Zeitschrift niedergelegten Befunde behaupten zu dürfen, dass beim Menschen allein mindestens sieben verschiedenartige typhoide morbi sui generis vorkommen, und dass eine zuverlässige Diagnose bei jeder derselben — bis auf die Holst'sche Krankheit — durch die Untersuchung des Blutserums allein und zwar durch **Ermittelung der Titer und Berücksichtigung der Agglutinations-Eigenthümlichkeit** jeder Serumart mit Bestimmtheit gestellt werden kann.

Mit wenigen Worten wollen wir noch auf unsere Terminologie eingehen. Jürgens hat in einem sehr beachtenswerthen Aufsatze [1] den Vorschlag gemacht, der vielartigen Ätiologie des klinischen Sammelbegriffes „Typhus" durch die ätiologischen Zusätze „Eberth'scher" und „Schottmüller'scher" Rechnung zu tragen, die althergebrachte klinische Bezeichnung „Typhus" jedoch für diese Krankheitsprocesse beizubehalten. Gegen das ätiologische Adjectiv lässt sich nichts einwenden; das Substantiv ist jedoch aus einer Anzahl von wichtigen Gründen, von welchen wir hier nur zwei anführen wollen, nicht zu acceptiren: zunächst aus Gründen epidemiologischer, prophylaktischer und klinischer Natur, indem wir über die Infectionswege der neu entdeckten Krankheitserreger — ich erinnere hier an die von einzelnen Autoren behauptete Identität von Paratyphen mit Fleisch-

[1] *Zeitschrift für klin. Medizin.* 1904. Bd. LII.

vergiftungen — so gut wie garnichts und über die klinischen Symptome der von ihnen erzeugten Processe noch sehr wenig wissen; der Krankheitsbegriff „Typhus" ist in allen diesen Richtungen revisionsbedürftig und bei dieser Arbeit die alte, heute doppelt- und mehrsinnige Bezeichnung zu vermeiden; — zweitens aus dem Grunde, weil die Reihe der „typhusähnlichen" Processe durch die heute bekannten, wie oben gezeigt wurde, nicht erschöpft ist und eine Belegung dieser Processe mit dem Namen „Typhus" den Thatsachen vorgreifen würde. So wäre es denn am zweckmässigsten, die in Rede stehenden Affectionen vorläufig als „Eberth'sche", Schottmüller'sche, „Brion-Kayser'sche" u.s.w. **Erkrankung** zuführen. Dies gilt natürlicher Weise nur für diejenigen, welche die nöthigen differentialdiagnostischen Untersuchungen durchgeführt haben; wo dies nicht der Fall ist, da kann man heutzutage, will man objectiv bleiben und den Boden des Thatsächlichen nicht verlassen, nur im Allgemeinen eine „Typhoide Erkrankung" diagnosticiren.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Hofrath Prof. Přibram, erlaube ich mir, an dieser Stelle für die thatkräftige, mir seit Jahren in so reichlichem Maasse geschenkte Unterstützung in experimentellen Untersuchungen meinen aufrichtigsten Dank zum Ausdruck zu bringen.

Nachtrag während der Correctur.

Th. Smith hat im Jahre 1891 den Hogcholera- und Colibacillus als „distincte Arten" derselben — in keiner Weise näher definirten — „Gattung" erklärt. Im Jahre 1899 hat er den B. suipestifer sammt seinen Varietäten einerseits gegen Typhus- und andererseits gegen Colibacillen abzugrenzen versucht, indem er darauf hinwies, dass der Hogcholerabacillus im Gegensatz zum ersteren Traubenzucker vergährt und im Gegensatz zum zweiten Saccharose und Laktose unberührt lässt. Zugleich theilte Smith mit, dass „einige andere thierpathogene, bewegliche Bacillen (B. enteritidis, B. typhi muricum, ein Bacillus aus der Scheide einer Stute nach Abortus)" das genannte Gährungsvermögen des Hogcholerabacillus besitzen. So entstand die „Hogcholeragruppe".

Nach einer mühevollen, jahrelangen Arbeit ist es uns gelungen, den, wie es scheinen musste, kaum mehr entwirrbaren Sammelbegriff verschiedenster Arten und sie verbindender „Uebergangsstämme": die damalige „Typhus-Coligruppe" auf eine exacte naturwissenschaftliche Basis zu bringen. Es hat sich gezeigt, dass unter diesem Namen zahlreiche differente Arten verschiedener in der Natur bestehender Bakteriengattungen inbegriffen waren. Die Smith'sche, dann die von Widal im



Jahre 1897 aufgestellte „Gruppe“ und schliesslich die van Ermengem'sche „Enteritisgruppe“ haben ihren natürlichen Platz innerhalb der Typhusgattung gefunden.[1] Ausdrücklich wurde dabei betont, dass die Abgrenzung der einen oder anderen Untergattung, — der Name „Gruppe“ ist, was bereits des Genauen begründet wurde, sachlich und sprachlich falsch —, zur Zeit unmöglich ist.

Dessen ungeachtet hat Böhme[2] in einer aus dem Ehrlich'schen Institute publicirten Arbeit die inzwischen weiter angewachsene „Hogcholeragruppe“ um einen neuen Stamm der Typhusgattung: den Psittakosebacillus vermehrt.

Dem gegenüber sei nochmals betont, dass alle diese „Gruppirungen“ sich derzeit noch in so wenig überzeugender Weise begründen lassen, dass die so entstandenen „Gruppen“ nicht das objectiv Wahre, sondern etwas rein Willkürliches darstellen müssen. Die Berücksichtigung der Gattungsspecificität aller Immunitätsreactionen, des Ferneren der, allen Arten einer Gattung eigenen Gemeinsamkeit einer Reihe von nicht specifischen Gattungsmerkmalen und schliesslich die, in der weiter unten folgenden Tabelle III verzeichneten Thatsachen, — diese drei Momente lassen eine beliebig grosse Anzahl derartiger mannigfaltig combinirter „Gruppen“ innerhalb der Typhusgattung construiren. Dafür stehen uns heute schon zehn, wie wir glauben, wohlbegründete Arten und an 30 noch nicht näher definirbare, für Menschen oder Thiere pathogene (vgl. Tabelle III) und eine nicht abzusehende Zahl von nicht pathogenen Stämmen zur Verfügung. Gegen alle diese „Gruppen“ wäre, sobald sie natürlich in hinreichender Weise begründet und mit der richtigen Bezeichnung „Untergattung“ benannt werden, im Princip nichts einzuwenden. Nur eine „Gruppe“ bezw. Untergattung ist von vornherein unhaltbar: die der „Hogcholera“.

van Ermengem war der Erste, der gegenüber der allgemein anerkannten Ansicht eine Multiplicität der Hogcholera-Aetiologie als wahrscheinlich erklärt hat.[3] Die Grundlage dieser Vermuthung: die von de Nobele erhaltenen differenten Agglutinationsbefunde, sind einerseits durch die Entdeckung der Gattungsspecificität der Agglutination und andererseits durch Feststellung serum-immuner Stämme in's Wanken gerathen. — Wir haben später nach Ermittelung von Thatsachen, die heute

[1] Ueber gattungs-specifische Immunitäts-Reactionen. *Diese Zeitschrift.* Bd. IL. S. 508.

[2] Weiterer Beitrag zur Charakterisierung der Hogcholera-(Paratyphus-) Gruppe. *Ebenda.* Bd. LII.

[3] Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. Kolle-Wassermann's *Handbuch.* Bd. II. S. 659.



Tabelle III.

Art-Nr.	Stamm-Nr.	Name der Art bezw. des Stammes	Traubenzucker	Galaktose	Arabinose	Rhamnose	Sorbit	Dulcit	Dextrin	Mannit	Maltose	Laevulose	Innulin	Xylose	Mannose	Raffinose
I		Eberth	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
?	1	B. gallinarum	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
?	2	B. phasianicida	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
?	3	B. vitulinus	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
?	4	B. diphth. cuniculi	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
?	5	B. Gaffky-Paak	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
II		Preisz [1]	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
III		Mac-Fadyean [2]	± [7]	+	+	±	±	±	+	±	±	+	±	+	+	Ø
IV	1	Crawford [3]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
	2	„Höchst a/M.“ [4]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
	3	B. suipestifer [5]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
V		Schottmüller	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
VI		Brion-Kayser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
VII		Longcope	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
?		28 Stämme incl. [6] der	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
VIII		Holst'schen und	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
IX		Gärtner'schen Art	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ø
X		Wesenberg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[1] Originalcultur.

[2] Originalcultur (Stamm: „Svinefever“).

[3] Originalcultur.

[4] Von den Farbwerken Höchst a/M. bezogen.

[5] Alter Laboratoriumsstamm unbekannter Herkunft.

[6] Ausser den 15 auf S. 520 und 521 der Publikation: „Ueber gattungs-specifische Immunitäts-Reactionen“ angeführten Stämmen (Rubrik: „Fleischvergiftungs-“ und „Epizootien-Erreger“) und den 12 auf S. 515 (Anm. 4) der vorliegenden Abhandlung genannten, noch der eigene Fleischvergiftungsstamm „Brüx“.

[7] ± bedeutet: auch in Schüttelculturen ganz vereinzelte, kleine bezw. in einzelnen Eprouvetten gar keine Gasblasen.

Ø bedeutet: in Schüttelculturen keine Gasbildung.

\+ „ „ „ starke „

zum Theil in der Tabelle III vereinigt sind, derselben Vermuthung Ausdruck gegeben.[1]

Nunmehr sind wir in der Lage, die damals geäusserte Ansicht exact beweisen zu können.

Die Tabelle III bringt das Gährvermögen einer Anzahl von Arten und Stämmen der Typhusgattung für eine Reihe von Kohlehydraten und Alkoholen zur Darstellung. Durch Voruntersuchungen wurde festgestellt, dass das Gährvermögen für alle in dieser Tabelle genannten Präparate eine artfeste Eigenschaft darstellt, indem sämmtliche Stämme jeder wohl definirten Art der Typhusgattung ausnahmslos bei jedem Versuch dasselbe gleiche Verhalten zeigten. Als Prüfstein dienten da 40 bis 45 Stämme der Eberth'schen, 17 der Schottmüller'schen, 8 der Brion-Kayser'schen und 3 der Longcope'schen Art. Wo die Gasbildung in Stichculturen (2 Procent Nähragar mit Zusatz von 1 Procent des betreffenden Präparates und 13 Procent Lackmustinctur) ausblieb, oder nur gering war, wurden mittels Zusatzes von ca. 1 ccm einer 20 stündigen Bouilloncultur Schüttelculturen angesetzt.

Ein Blick auf die Tabelle und die Berücksichtigung der übrigen in der vorliegenden Publikation mitgetheilten Thatsachen lassen sofort erkennen, dass unter dem Namen „Hogcholera" — oder zu deutsch Schweinepesterreger zu mindestens drei verschiedene Arten zusammengeworfen werden.

Wir haben uns selbstverständlich nicht allein auf Feststellung artfester cultureller Differenzen und Ermittelung der Agglutininstructur beschränkt, sondern sind auch bemüht mit Hülfe des Thierversuches den letzten Beweis dafür zu erbringen, dass diese differenten Arten thatsächlich die Schweinepest erzeugen. Diese Arbeit ist seit längerer Zeit im thierärztlichen Institute des Hrn. Prof. Dr. Dexler in Gang. Eine Anzahl von Schweinen wurde bereits mit der Preisz'schen und Mac Fadyean'schen Art peroval inficirt; wenn auch diese Untersuchungen zur Zeit noch nicht abgeschlossen sind[2], so lässt sich bereits auf Grund der bisherigen Resultate mit Bestimmtheit sagen, dass die genannten Bakterienarten bei Schweinen die Schweinepest erzeugen.

Die Tabelle III enthält zehn durch römische Zahlen als solche gekennzeichnete differente Arten der Typhusgattung. Mannigfaltige Belege für die differente Artnatur derselben finden sich sowohl in der vorliegenden, wie in den früheren, diesen Gegenstand behandelnden Publikationen.

[1] Ueber gattungs-specifische Immunitäts-Reactionen. *Diese Zeitschrift.* Bd. II. Schlussfolgerung. IV. S. 536.

[2] Der Ätiologie der Schweinepest gedenken wir später eine ausführlichere Mittheilung zu widmen.



Das Verhältniss der übrigen, in der Tabelle III verzeichneten zahlreichen Stämme zu einander und zu den bereits festgestellten zehn Arten wollen wir an dieser Stelle — so deutlich scheinbar die Sprache der Tabelle III — nicht erörtern: diese Fragen bedürfen einer noch viel weitergehenden Untersuchung, als wir sie bis jetzt durchzuführen in der Lage waren.

Auf all das gedenken wir später zurückzukommen. Hier sei das eine festgestellt, dass an der Aetiologie der Schweinepest verschiedene Arten der Typhusgattung betheiligt sind, dass der heutige „Hogcholera"-Bacillus demnach einen Sammelnamen dieser differenten Arten darstellt und dass aus diesem Grunde eine „Hogcholeragruppe" unhaltbar ist.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Neue Desinfectionsmittel aus Naphtolen.

Von

Dr. **Hans Schneider.**

Durch die Untersuchungen von **Bouchard**[1] und **Maximowitsch**[2] war es bekannt geworden, dass die Naphtole hohe baktericide Eigenschaften besitzen. In Folge der ausserordentlich geringen Wasserlöslichkeit dieser Producte konnte jedoch bisher an eine Verwerthung dieser Eigenschaften zu Desinfectionszwecken nicht gedacht werden, dagegen wurden sie von dem ersten Autor als Darmantiseptica, wo schwer lösliche Mittel indicirt sind, empfohlen. Es war dann der Versuch gemacht worden, das β-Naphtol, das beständigere von den beiden Naphtolen, in Form seines wasserlöslichen Natriumsalzes in die Desinfection einzuführen, was aber an der geringen Beständigkeit dieses Productes scheiterte. Dasselbe zersetzt sich schon im trockenem Zustande nach kurzer Zeit, es verharzt, wie man zu sagen pflegt, und es entsteht eine wasserunlösliche, für Desinfectionszwecke ungeeignete Substanz. Zudem besitzt das Natriumsalz bei Weitem nicht die hohe Desinfectionskraft des freien Naphtols. Nach einer Publikation von N. **Corzolino**[3] gab **Berlioz** zur Einführung des β-Naphtolnatriums als Desinfectionsmittel unter dem Namen Mikrocidin Veranlassung.

Zum besseren Verständniss des Späteren will ich hier kurz auf die chemische Constitution der Naphtole und ihre Eigenschaften eingehen.

---

[1] *Compt. rend.* T. CV. p. 702—707. — Ref. *J. f. T.-Chemie.* Bd. XVII. S. 49[illegible]

[2] *Compt. rend.* T. CVI. p. 366—368 u. p. 1441—1443. — Ref. *J. f. T.-Chemie* Bd. XVIII. S. 356.

[3] *La Riforma med.* 1893. p. 200. — Ref. *Centralblatt für Bakteriol.* Bd. XV. S. 441.



Die Naphtole leiten sich, analog dem Phenol vom Benzol, vom Naphtalin ab, es sind einwerthige Phenole oder Hydroxylderivate des letzteren Kohlenwasserstoffes.

Naphtalin α-Naphtol β-Naphtol

H H
C C
HC C CH
HC C CH
C C
H H

OH OH

Der Phenolcharakter ist jedoch bei den Naphtolen kein so ausgesprochener wie beim Phenol und den Kresolen. Sie lösen sich zwar wie jene in Aetzalkalien, bilden damit aber nur wenig beständige Salze. Ich möchte darauf hinweisen, dass mit zunehmendem Kohlenstoffgehalt im Moleküle die Phenole ihren sauren Charakter und damit die Fähigkeit, Salze zu bilden, mehr und mehr verlieren, so z. B. besitzen die Kresole schwächer sauren Charakter als die Carbolsäure, und bei den Naphtolen geht dieser noch erheblich mehr zurück. Der Abnahme des sauren Charakters entgegengesetzt beobachtet man mit steigendem Kohlenstoffgehalt (von Phenol zu Naphtol) sowohl bei den freien Phenolen als auch bei deren Alkalisalzen eine Zunahme in der Desinfectionswirkung. So wirken, wie dies hinlänglich bekannt ist, die Kresole stärker desinficirend wie das Phenol, und die Naphtole wiederum übertreffen die Kresole an Desinfectionskraft.

Die Kresolalkalisalze zeigen geringe Desinfectionswirkung, noch geringere die Phenolalkalisalze, die Naphtolalkalisalze dagegen besitzen eine recht beachtenswerthe Desinfectionskraft, wenn dieselbe auch lange nicht an die der freien Naphtole heranreicht. Die Phenol- und Kresolalkalisalze sind ziemlich beständig, während bei den Naphtolalkalisalzen die Bindung zwischen dem Sauerstoff der Hydroxylgruppe und dem Alkali eine sehr lose ist und zum Zerfall neigt.

Auch in Bezug auf Wasserlöslichkeit zeigt sich in dem Verhalten der Phenole eine gewisse Gesetzmässigkeit. Während das Phenol selbst in Wasser leicht löslich ist, lösen sich die Kresole schwer, und die Naphtole sind nahezu unlöslich. Die Löslichkeit von β-Naphtol in Wasser von gewöhnlicher Temperatur beträgt nur ca. 0·1 Procent, die von α-Naphtol ist wenig höher.

Bei Versuchen, welche dahin zielten die stark baktericiden Fähigkeiten der Naphtole durch Wasserlöslichmachung derselben zur Entfaltung zu bringen, machte ich nun die Beobachtung, dass durch fixe kohlensaure Alkalien, z. B. Soda, die Löslichkeit der Naphtole in Wasser erheblich

gesteigert wird, ohne dass eine Salzbildung stattfindet. Es gelingt auf diese Weise, für Desinfectionszwecke geeignete, stark wirkende Lösungen herzustellen, welche das Naphtol in freiem Zustande physikalisch gelöst und nicht an Alkali gebunden enthalten. Die, wie oben schon erwähnt, nur schwach sauren Charakter besitzenden Naphtole sind nicht im Stande, kohlensaures Alkali zu zerlegen. Aus diesem Grunde sind derart hergestellte Desinfectionslösungen den Naphtolalkalisalzen an Desinfectionskraft erheblich überlegen. Im Gegensatz zu letzteren halten sich für Desinfectionszwecke hergestellte trockene Mischungen aus Naphtol und wasserfreier Soda unbegrenzt lange.

Als wirksamste Mischungsverhältnisse von Naphtol und Soda haben sich gleiche Theile ergeben. Leider ist die Löslichkeit des Naphtols in diesen Mischungen keine so unbegrenzte und leichte, als es für alle Fälle erwünscht wäre. Es gelingt nämlich auch hier nur bis zu ca. 1 Procent Naphtol in Lösung zu bringen, auch muss zur Auflösung warmes Wasser verwendet werden. Steigert man in den Mischungen den Sodagehalt, so wird die Löslichkeit der Naphtole allerdings weiter verbessert, die Desinfectionskraft des gelösten Naphtols dagegen herabgesetzt. Für die Praxis kommt für derartige Desinfectionsmittel nur β-Naphtol in Frage, weil dasselbe von den beiden Naphtolen das billigere und auch beständigere ist.

Die chemische Fabrik Grünau, Landshoff & Meyer, A.-G., in Grünau b. Berlin, die grösste Naphtol producirende Fabrik, welche jährlich hunderttausende von Kilogrammen für Zwecke der Farbenfabrikation fabricirt, hatte die Liebenswürdigkeit, mich bei meinen Arbeiten in dankenswerther Weise zu unterstützen, indem sie mir mit mechanischen Hilfsmitteln im Grossen ausserordentlich feinpulverige und innige Naphtolsodamischungen herstellte, welche eine erheblich bessere Löslichkeit zeigten, als entsprechende Mengen von Naphtol und Soda, welche ohne vorherige Mischung zur Lösung gebracht wurden. Die Naphtolsodalösungen zeigen gegenüber tuberculösem Sputum, wie der inzwischen verstorbene Professor Elsner im hiesigen Institute durch Versuche festgestellt hat, eine grössere Lösungskraft als die Kresolseifen. Den letzteren sind sie an Desinfectionskraft erheblich überlegen. Bemerkenswerth ist die verhältnissmässig kräftige Wirkung auf Milzbrandsporen.

An Seidenfäden angetrocknete Milzbrandsporen, welche von 5 procent. Lysol in 10 Tagen noch nicht vernichtet wurden, gelangten durch die 1 procent. Lösung in 96 Stunden und durch die 1·5 procent. Lösung in 72 Stunden zur Abtödtung.

Nachstehend verzeichne ich einige Tabellen über die Desinfectionswirkung. Bei den Versuchen sind Staphylokokken (aureus), Milzbrand-



sporen und Typhus als Testobjecte verwendet, zum Vergleich ist Kresolseife (Lysol) herangezogen.

Mit G. 50 ist ein Gemisch bezeichnet, welches 50 Procent β-Naphtol und 50 Procent Soda enthält.

Die der Desinfectionsflüssigkeit entnommenen Fäden wurden zur Entfernung von anhaftendem Desinficiens in steriler 1 pro mill. Natronlauge 1 bis 2 Minuten gespült und dann in Bouillonröhrchen von 10 ccm Inhalt gebracht, welche im Brütschranke von 37° C. 6 bis 8 Tage lang auf Wachsthum beobachtet wurden. Milzbrandsporenfäden wurden in $^1/_2$ procent. Natronlauge ca. 10 Minuten gespült und dann auf schwachen Agar gebracht. Es wurde hier deshalb länger und mit stärkerer Natronlauge gespült, um an den Fäden anhaftendes Naphtol, welches bei dem langen Liegen in der Desinfectionsflüssigkeit daran auskrystallisirt war, vollständig zu entfernen.

I. Staphylokokken an Seidenfäden angetrocknet.

Desinfectionsdauer (Minuten):		5	10	15	20	25	30	40	50	60
G. 50 (50 β-Naphtol, 50 Soda)	0·5 Proc.	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„	1·0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„	1·5 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Lysol	1·0 „	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„	2·0 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—

+ = Wachsthum, — = Abtödtung. Controle +.

II. Milzbrandsporenfäden.

Desinfectionsdauer (Stunden):		8	16	24	48	72	96	144	192	240
G. 50 (50 β-Naphtol, 50 Soda)	1·0 Proc.	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„	1·5 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Lysol	5·0 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Controle +.

Die in der nächstfolgenden Tabelle verzeichneten Versuche wurden in der Art ausgeführt, dass 24stündige Bouillonculturen von Staphylokokken bezw. Typhus mit der Desinfectionslösung vermischt wurden, so dass in diesen Mischungen das Desinficiens zu dem angegebenen Procentsatz enthalten war.

Zu bestimmten Zeiten wurde von den Desinfectionsgemischen eine grosse Oese voll in 10 ccm Nährbouillon übertragen und zur Neutralisirung



des mit in die Bouillon gelangten Desinficiens eine gleichgrosse Oese $^1/_2$ procent. Natronlauge zugefügt. Die Röhrchen wurden dann wie üblich im Brütschranke von 37° C. beobachtet.

Wie aus Tabelle I und III ersichtlich ist, zeigt die Mischung **G. 50**, aus 50 Theilen β-Naphtol und 50 Theilen Soda bestehend, gegenüber vegetativen Formen die doppelte oder eine in einigen Fällen noch grössere Wirksamkeit wie Lysol.

III.

Desinfectionsdauer Minuten:			**Staphylokokken** (Aureus)								**Typhus**							
			1	2	4	6	8	10	15	20	1	2	4	6	8	10	15	20
G. 50	1/2	Procent	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	1	"	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lysol	1/2	"	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—
"	1	"	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = Wachsthum. — = Abtödtung. Controle +.

Zu erwähnen ist noch, dass **Maximowitsch** die Naphtole wenig giftig fand. Nach ihm ist ferner α-Naphtol weniger giftig als die β-Verbindung. Ausser **Bouchard** empfahl **Terranini**[1] β-Naphtol innerlich und zwar zur antiseptischen Behandlung von Magenkrebs, bei welchem er Tagesdosen bis zu 4 grm gab. Hiernach zu schliessen, scheint die Giftwirkung der Naphtole allerdings keine sehr erhebliche zu sein.

Ferner fand **Maximowitsch**, dass die α-Verbindung einen höheren antiseptischen Werth besitze als die β-Verbindung.

Ich fand bei meinen Desinfectionsversuchen mit Naphtolsodamischungen α-Naphtol gleichfalls, wenn auch nur wenig, stärker wirkend als β-Naphtol.

Zum Schluss will ich noch bemerken, dass die Lösungen der Naphtolsodamischungen nicht unangenehm riechen, sondern einen schwachen aromatischen Geruch zeigen.

Die vorliegende Arbeit wurde zum grössten Theile, die bakteriologischen Versuche ausschliesslich in der chemischen Abtheilung des Institutes für Infectionskrankheiten ausgeführt.

[1] *Centralblatt für klin. Medicin.* (Ref.) Bd. XI. S. 196—198.



Nachtrag

zu

„Färbung und Theilung von Spirochaeten".

Von

Zettnow.

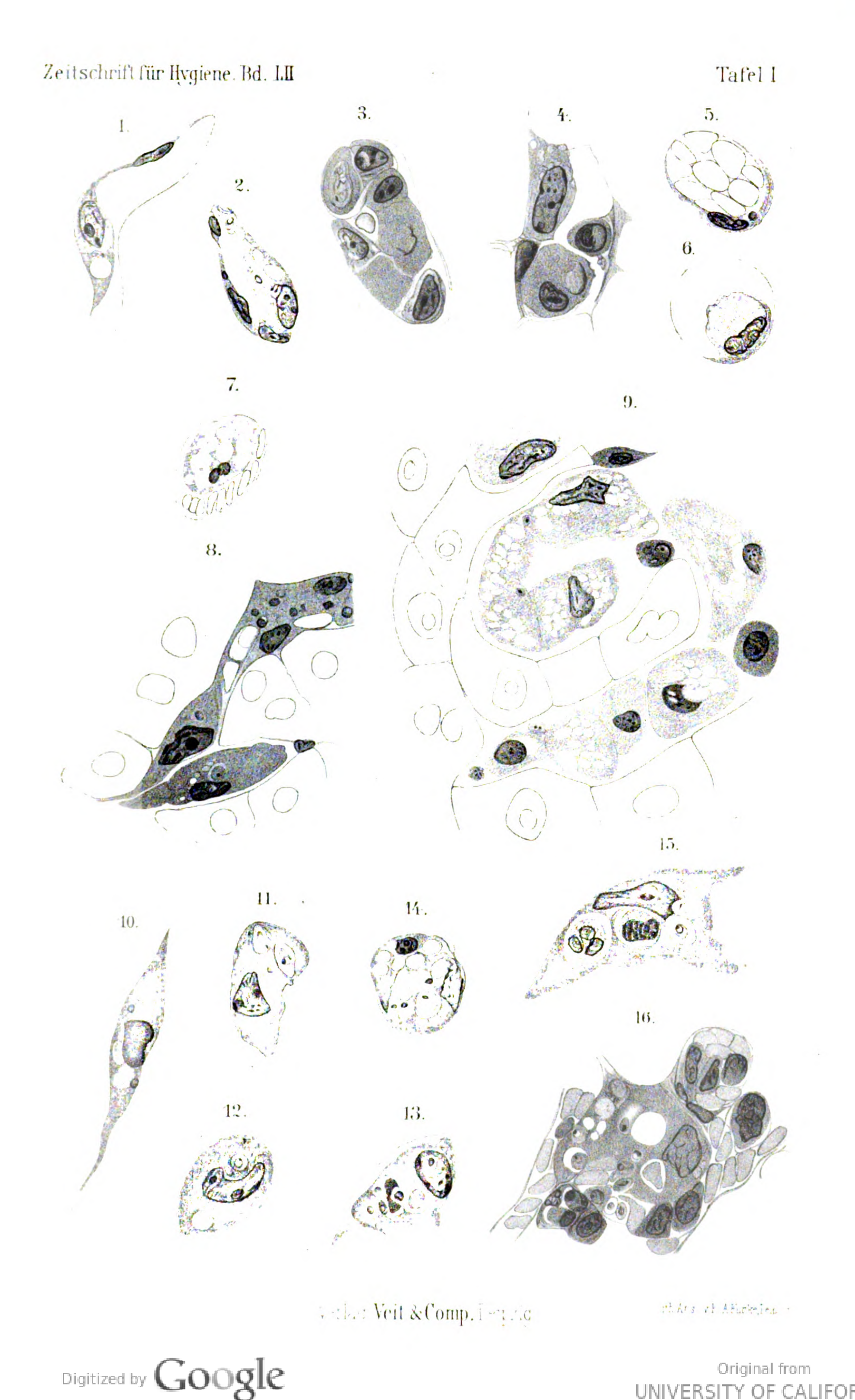
Meine auf S. 488 dieses Bandes ausgesprochene Ansicht, dass ich bei Recurrens-Spirochaeten Geisseln nicht habe nachweisen können, muss ich in das Gegentheil umändern.

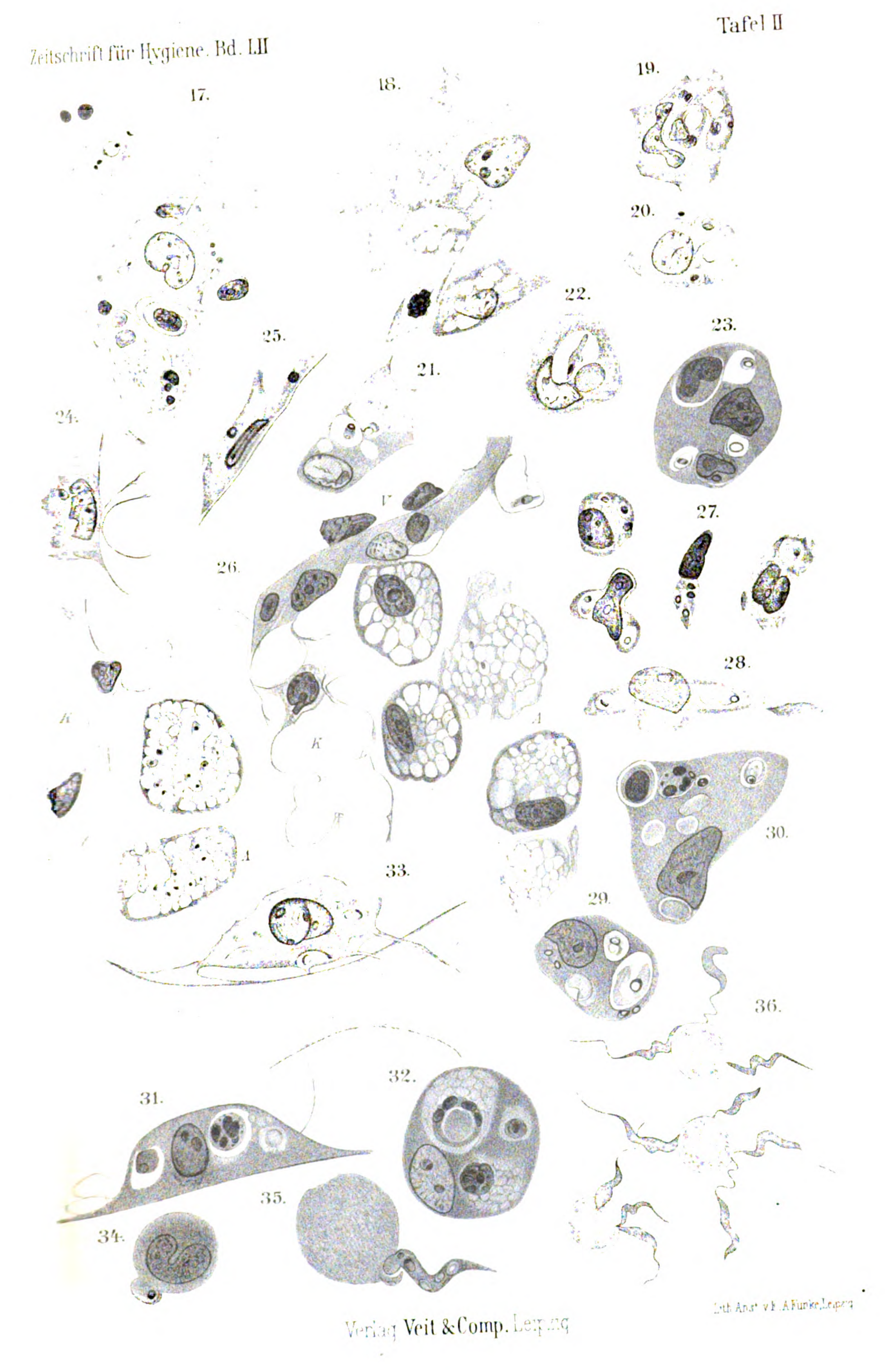
Nach Niederschrift meiner Arbeit, Mitte Januar 1906, ist M. A. Borrel's Veröffentlichung über die Geisseln der Hühnerspirochaeten erschienen[1]; ich habe seine Angaben mit Material, welches ich Hrn. Stabsarzt Dr. Kleine verdanke, nachgeprüft und kann sie bestätigen; auch Recurrens-Spirochaeten, aus Rattenblut durch Centrifugiren gewonnen und sofort lebend sehr dünn ausgestrichen, liessen ohne Schwierigkeit zahlreiche Geisseln an den Seiten erkennen, seltener an den Polen, da sie beim Defibriniren und Centrifugiren des Blutes abreissen und an diesen Stellen nur ein geringer, die Zuspitzung der Spirochaete bildender Rest zurückbleibt. Die Geisseln verquellen äusserst leicht, auch in verdünntem Formalin oder Osmium, sind daher nach dem Absetzen aus solchen Flüssigkeiten nicht mehr nachweisbar.

[1] *Comptes rendus hebdomadaires des séances de la Société de Biologie.* 26. Jan. 1906. T. LX. Hft. 3. p. 138.

Berlin, 24. Februar 1906.

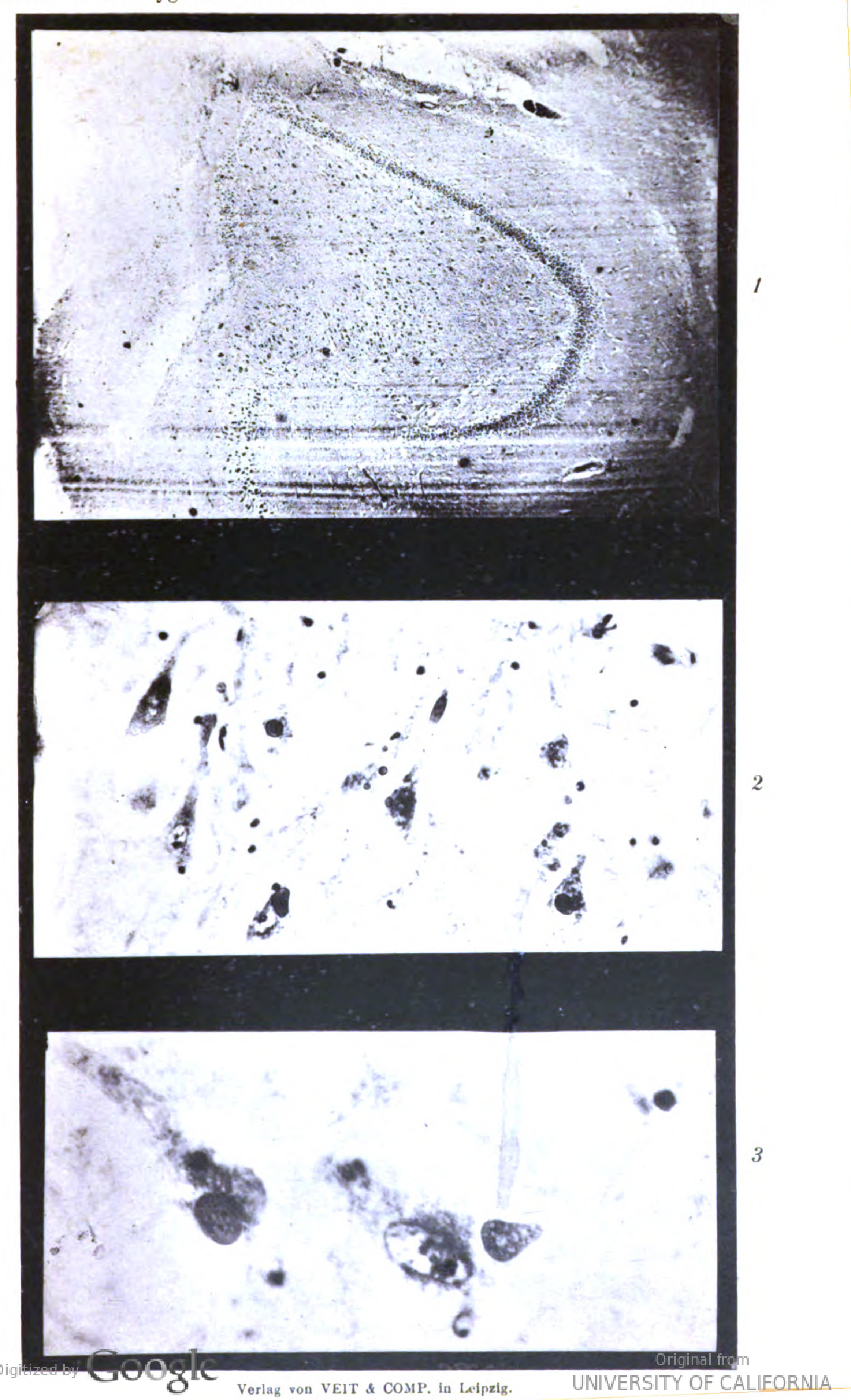



Zeitschrift für Hygiene. Bd. LII
Tafel I
1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
Veit & Comp.

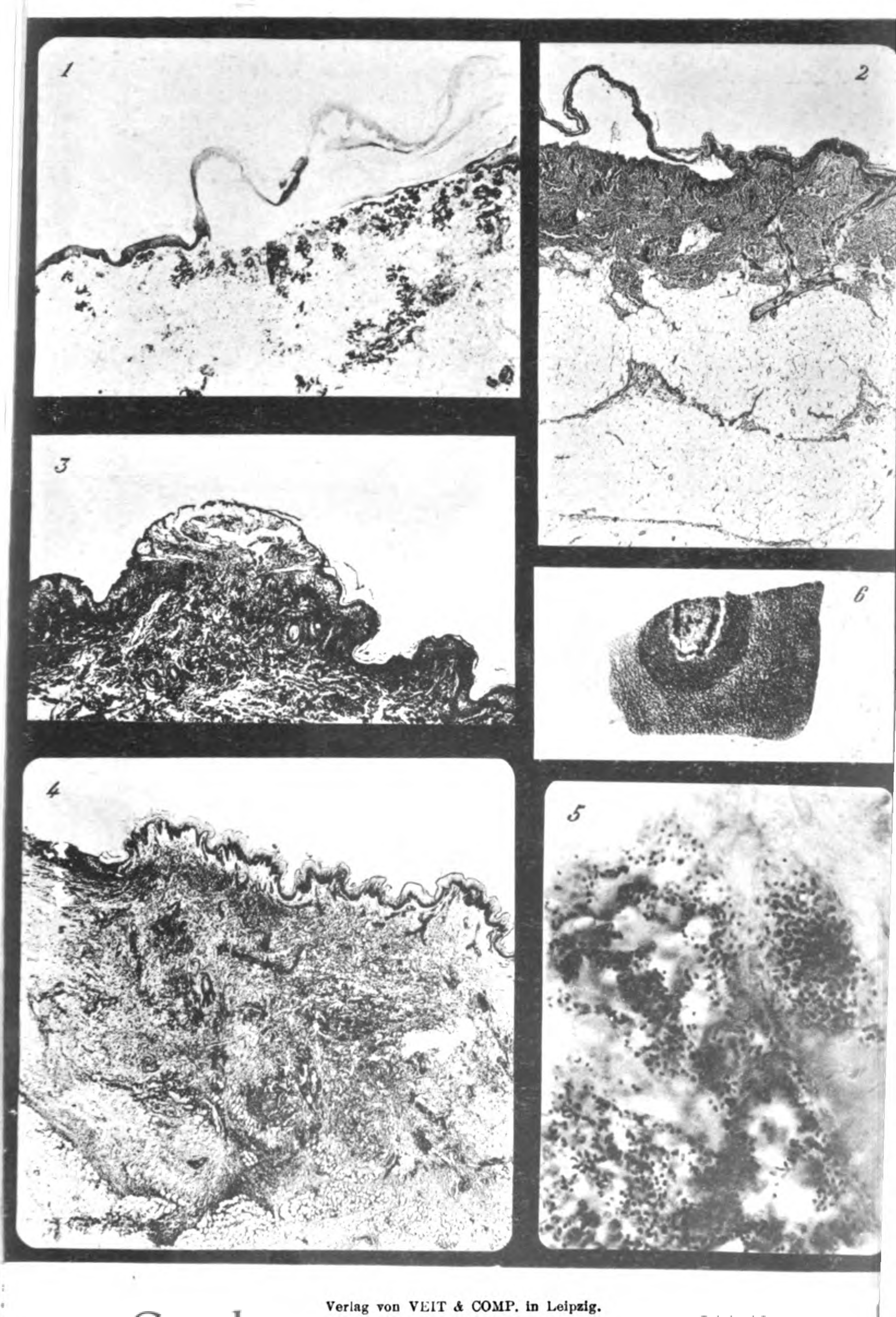


Verlag Veit & Comp. Leipzig

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

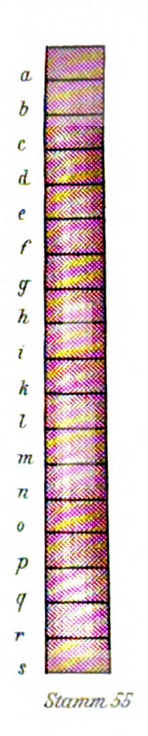


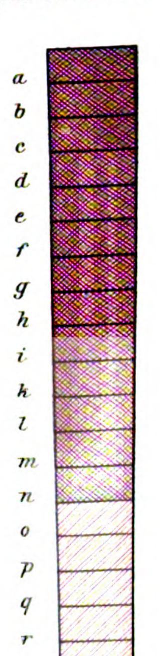
Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

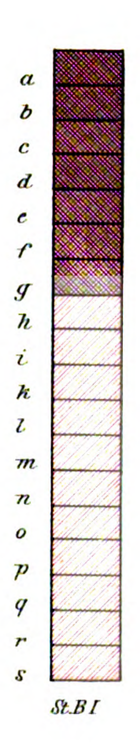


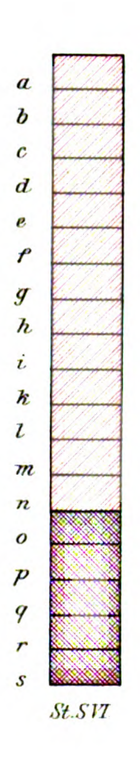
Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

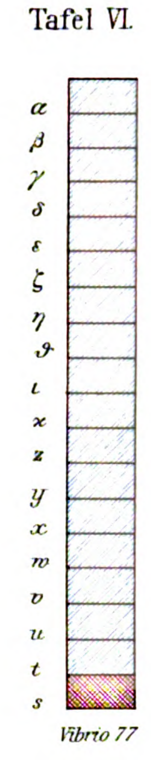

1.
b
a
a
a
6.
c
a
7.
5.
b
b
b
12.

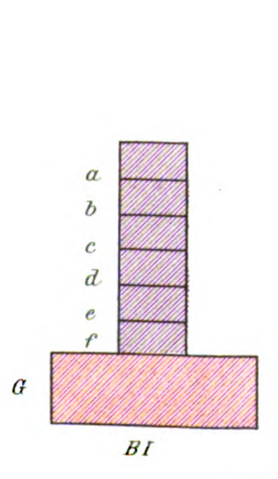


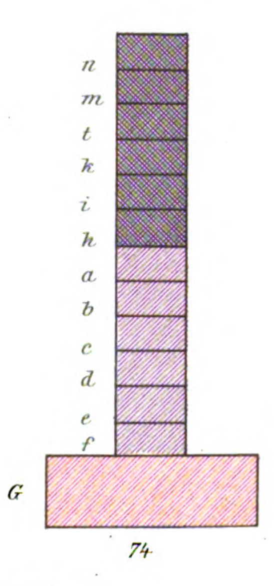












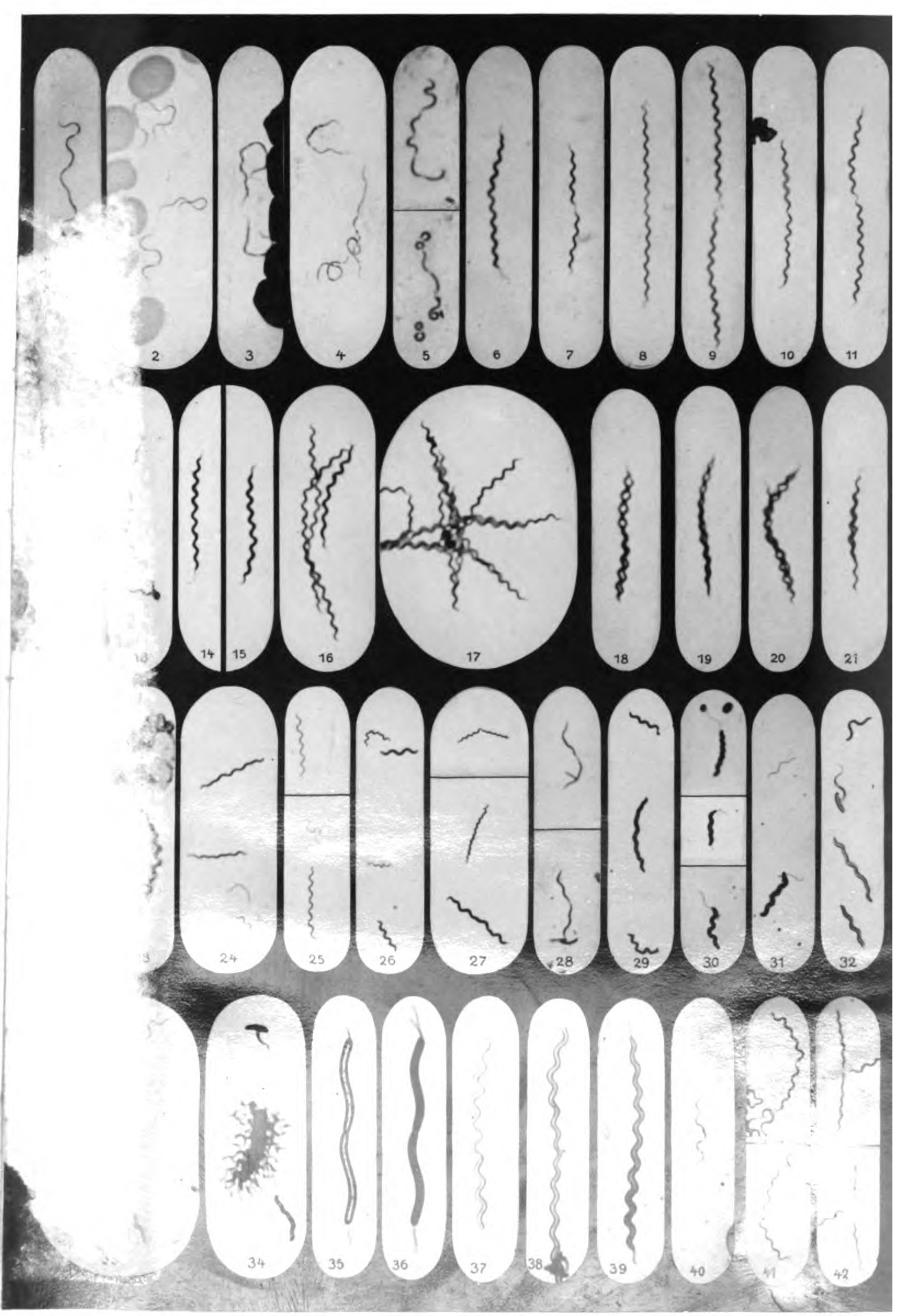
Erklärung der Zeichnungen.

1. *Kleine rote Felder = Cholera-Receptoren.*
2. *Kleine rote Felder, schwarz schraffiert = mit starker Avidität begabte Cholera-Receptoren.*
3. *Kleine blaue Felder = Receptoren Cholera-ähnlicher Vibrionen.*
4. *Grosse rote Felder (G) = Cholera-Grundreceptor.*
5. *Kleine Felder violet und violet schwarz schraffiert = Cholerapartialreceptoren verschiedener Art.*

Verlag Veit & Comp. Leipzig.

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.





E. Zettnow phot.

Verlag von Veit & Comp. in Leipzig.

